

**UNTERSUCHUNGEN
DER THYLAKOIDMEMBRAN VON
RHODOPSEUDOMONAS SPHEROIDES
MITTELS
RÖNTGENKLEINWINKELSTREUUNG**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des

Fachbereichs Chemie

der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Dipl.- Phys. Ernst Heinrich Pape

aus Pombsen/Schlesien

1971
—

**UNTERSUCHUNGEN
DER THYLAKOIDMEMBRAN VON
RHODOPSEUDOMONAS SPHEROIDES
MITTELS
RÖNTGENKLEINWINKELSTREUUNG**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

des

Fachbereichs Chemie

der Freien Universität Berlin



vorgelegt von

Dipl.- Phys. Ernst Heinrich Pape

aus Pombsen/Schlesien

1. Gutachter: Prof.Dr. R. Hosemann
2. Gutachter: Prof.Dr. H. Bradaczek

Tag der mündlichen Prüfung: 22.12.1971



Inhaltsverzeichnis

	Seite
<u>I. Einleitung</u>	1
<u>II. Theoretischer Teil</u>	2
1.a) Die Q-Funktion	2
b) Analyse der Q-Funktion einer eindimensionalen Schichtstruktur, die aus symmetrischen Bausteinen aufgebaut ist	4
c) Ein Verfahren zur Ziehung der Faltungswurzel aus der Q_0 -Funktion symmetrischer Strukturen im eindimensionalen Fall	7
2. Die Streuintensität eines eindimensionalen parakristallinen Schichtgitters, aufgebaut aus nichtsymmetrischen Bausteinen bei regelmäßiger Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung	13
<u>III. Experimente und Auswertung</u>	19
1. Die isotrope Röntgenkleinwinkelstreuung isolierter Thylakoide in wässriger Suspension	21
2. Die meridionale Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide	27
3. Die meridionale Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide nach Extraktion der Lipide mit wasserfreiem Aceton	39
<u>IV. Diskussion der Ergebnisse</u>	41
<u>V. Zusammenfassung</u>	48
<u>VI. Anhang</u>	50
1. Berechnung des Faltungsquadrats mittels Fourierreihen	
2. Berechnung der Faltungswurzel mittels Fourierreihen	52
<u>VII. Literaturverzeichnis</u>	54

I. Einleitung

Die Photosynthese als primärer energieliefernder Vorgang in der belebten Materie ist in den dazu befähigten Organismen an bestimmte chlorophyllhaltige Strukturen gebunden. Der Grundbaustein dieser Strukturen ist eine in sich geschlossene Doppelmembran, für die von Menke [1] der Begriff Thylakoid geprägt wurde. Diese Thylakoide können einzeln als runde oder abgeplattete Vesikel vorliegen oder aber in charakteristischer Weise übereinander gestapelt sein. Bei phototrophen Bakterien und Blaualgen sind diese Membransysteme frei im Zellplasma verteilt, während sie bei grünen Algen und bei höheren Pflanzen in abgeschlossenen Organellen, den Chloroplasten, lokalisiert sind.

Zur Untersuchung der Feinstruktur dieser Gebilde stehen hauptsächlich zwei Methoden zur Verfügung, die Röntgenbeugung und die Elektronenmikroskopie. Die großen Schwierigkeiten in der "schonenden" Präparation und die Vielzahl der möglichen Parameter, die bei der Untersuchung eines so komplexen chemischen Systems eingehen, haben bisher keine eindeutige, in sich widerspruchsfreie und allseits anerkannte Strukturbestimmung zugelassen.

Nachdem Kreutz [2] eine sehr eingehende röntgenografische Strukturuntersuchung der Chloroplastenthylakoide durchgeführt hatte, stellte sich die interessante Frage:

Wie sind die Verwandtschaften dieser Chloroplastenthylakoide zu den nichtgestapelten, vesikulären Thylakoiden eines phototrophen Bakteriums auf strukturellem Gebiet?

Zwei günstige Aspekte für eine röntgenografische Untersuchung der Bakterienthylakoide waren zudem dadurch gegeben, daß hier eine einfacher gebaute Membran zu vermuten war und daß weiterhin der Strukturfaktor im Verhältnis zum Gitterfaktor den dominierenden Einfluß auf die Röntgenstreu Kurve haben sollte.

Im Rahmen dieser Arbeit wird nun über röntgenografische Untersuchungen von Thylakoiden des schwefelfreien Purpurbakteriums "Rhodopseudomonas spheroides" berichtet.

II. Theoretischer Teil

1.a) Die Q-Funktion

Allen in diesem Zusammenhang durchgeführten Rechnungen liegt die kinematische Beugungstheorie der Röntgenstrahlen zugrunde. Die Röntgenstreuamplitude $F(b)$ ist im Rahmen dieser Theorie gegeben durch die Fouriertransformierte der Elektronendichteverteilung $\varrho(x)$:

$$(1) \quad F(b) = \mathcal{F}(\varrho(x)) = \int \varrho(x) e^{-2\pi i(bx)} d^3x$$

wobei

$b = S - S_0$ = Ortsvektor im reziproken Raum

S_0, S = Einheitsvektoren in Richtung der einfallenden bzw. der gestreuten Welle

$|b| = 2 \sin \vartheta / \lambda$

2ϑ = Streuwinkel

$\mathcal{F}$ = Symbol für die Fouriertransformation

λ = Wellenlänge der Röntgenstrahlung

bedeuten. (Im Kleinwinkelbereich von 0 bis ca. 4° kann in guter Näherung $\sin \vartheta = \vartheta$ gesetzt werden).

Die Streuintensität $\hat{I}(b)$ ist dem Quadrat des Betrages der Fouriertransformierten $F(b)$ proportional:

$$(2) \quad \hat{I}(b) = I_0 f_e f_p I(b) / r^2$$

mit

$$(3) \quad I(b) = F(b) F^*(b) = |F(b)|^2$$

Dabei bedeutet r den Abstand der streuenden Substanz zum Film, I_0 die Primärintensität des einfallenden Röntgenstrahls, f_e den Streufaktor eines einzelnen Elektrons und f_p den Polarisationsfaktor. Da nur relative Intensitätsmessungen vorgenommen wurden, ist im folgenden mit der Streuintensität $I(b)$ stets der Ausdruck (3) gemeint.

Die Faltung zweier Funktionen f_1 und f_2 miteinander ist definiert durch

$$(4) \quad Q_{12}(x) = \overline{f_1(x) f_2(x)} = \int_{-\infty}^{+\infty} f_1(t) f_2(x-t) dt$$

Der Faltungssatz besagt, daß die Fouriertransformierte eines Faltungsprodukts zweier Funktionen gleich dem Produkt der Fouriertransformierten der beiden Funktionen ist:

$$(5) \quad \mathcal{F}(f_1 f_2) = \mathcal{F}(f_1) \mathcal{F}(f_2)$$

Als Faltungsquadrat (Symbol $\hat{\sim}$) bezeichnet man speziell die Faltung einer Funktion $f(x)$ mit der dazu inversionssymmetrischen Funktion $f(-x)$. Die Q-Funktion nun ist das Faltungsquadrat der Elektronendichteverteilung $\varrho(x)$.

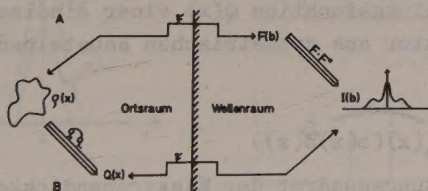
Unter Benutzung des Faltungssatzes ergeben sich zwei mathematisch äquivalente Darstellungen der Streuintensität $I(b)$, die Fouriersynthese und die Pattersonsynthese:

$$= F(b) F^*(b) = \int \varrho(x') e^{-2\pi i(bx')} dx' \int \varrho(t) e^{2\pi i(bt)} dt$$

(6) $I(b)$

$$= \mathcal{F}(Q(x)) = \int \left(\int \varrho(x) \varrho(x'-x) dx \right) e^{-2\pi i(bx)} dx$$

Substitution: $x' - t = x$



Schema der beiden äquivalenten Darstellungen von I in der kinematischen Beugungstheorie

A : Fouriersynthese
B : Pattersonsynthese

$\varrho(x)$: Elektronendichteverteilung
 $\varrho(-x)$: Faltung von $\varrho(x)$ mit $\varrho(-x)$
 $Q(x)$: Abstandsverteilung
 F : Fouriertransformation
 $F(b)$: Streuamplitude
 $I(b)$: Streuintensität

Abb. 1 Die beiden äquivalenten Darstellungen der gestreuten Intensität $I(b)$. Die Analyse von I über die Q-Funktion (Weg B) vermeidet zunächst das Kardinalproblem der Röntgenstrukturanalyse, das Phasenproblem. Das entsprechende Problem liegt hier in der Entfaltung der Q-Funktion.

Für den unendlich großen, idealen Kristall geht die Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ in die Pattersonfunktion über. Liegt ein endlicher Kristall vor, der nur aus einigen Gitterzellen aufgebaut ist, so ist es möglich, aus der Q -Funktion die sog. Q_0 -Funktion, das Faltungsquadrat einer einzelnen Gitterzelle, zu separieren. Hosemann und Bagchi [3] haben gezeigt, daß es dann speziell bei centrosymmetrischen Strukturen möglich ist, in direkter Vorwärtsrechnung aus der Intensitätsfunktion über die Q -Funktion, die Q_0 -Funktion und durch die Entfaltung der Q_0 -Funktion zu der Elektronendichteverteilung $\rho_0(x)$ in einer einzelnen Gitterzelle zu kommen.

Kreutz [2] hat als erster auf biologischem Gebiet auf diese Weise die Röntgenkleinwinkelstreuung gestapelter Thylakoide aus Chloroplasten analysiert.

1.b) Analyse der Q -Funktion einer eindimensionalen Schichtstruktur, die aus symmetrischen Bausteinen aufgebaut ist

Die Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ einer eindimensionalen Schichtstruktur aus symmetrischen Bausteinen ist gegeben durch

$$(7) \quad Q(x) = \overbrace{Q_0(x)(z(x)s(x))}^2$$

$Q_0(x)$ ist das Faltungsquadrat der Elektronendichteverteilung $\rho_0(x)$ eines einzelnen Bausteins, $z(x)$ ist die Gitterstatistikfunktion und $s(x)$ ist die Gestaltsfunktion. Diese Gestaltsfunktion, eine rein formale Konstruktion zur Beschreibung der Kristallitgröße, ist definiert durch:

=1 innerhalb des Kristalliten

$$(8) \quad s(x) = \begin{cases} 1 & \text{innerhalb des Kristalliten} \\ 0 & \text{außerhalb des Kristalliten} \end{cases}$$

Das Faltungsquadrat dieser Rechteckfunktion ist eine Dreiecksfunktion. Vernachlässigen wir zunächst Gitterstörungen innerhalb eines Kristalliten, so kann die Gitterstatistikfunktion als Summe von Punktfunktionen im Sinne der Dirac'schen Deltafunktion, getrennt jeweils durch den Bausteinabstand a , dargestellt werden.

Das Produkt dieser Funktion mit einer Dreiecksfunktion ist eine begrenzte, fallende Folge von Punktfunktionen. Im Ursprung verbleibt eine Punktfunktion mit dem Gewicht 1; die Punktfunktionen an den Stellen na haben das Gewicht $(N-n)/N$, wobei N die Anzahl der Bausteine im Kristalliten bedeutet.

Die Funktion $Q(x)$ entsteht dann durch Faltung der Funktion $Q_0(x)$ mit den entsprechend gewichteten Punktfunktionen an den Stellen na ($n=0,1,\dots,N-1$). Aus Abbildung 2 wird zugleich das Schema der Analyse deutlich:

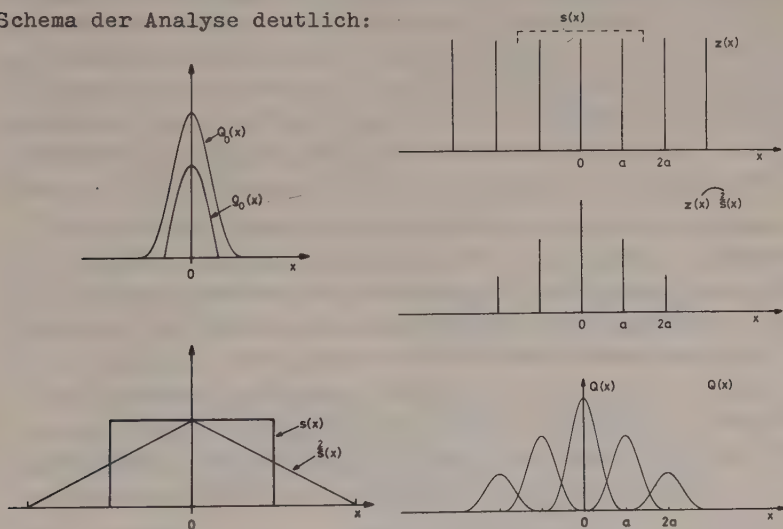


Abb. 2 Zusammenhang zwischen $Q, Q(x), s(x), z(x)$ in der Abstandsverteilung einer eindimensionalen Schichtstruktur aus symmetrischen Bausteinen (anhand eines einfachen Beispiels demonstriert)

Die Aufteilung der gesamten Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ in die intrapartikulären Abstände, dargestellt durch die Q_0 -Funktion am Orte $x=0$, und in die interpartikulären Abstände, zu ersten, zweiten bis n -ten Nachbarn, gegeben durch die Q_0 -Funktionen an den Stellen $a, 2a$ bis na , geschieht dann zweckmäßigerweise so, daß an der äußersten Stelle na der Außenteil dieser Q_{on} -Funktion um eine zur Ordinatenachse parallele Gerade an dieser Stelle na zu spiegeln und von der Q -Funktion im Intervall $((n-1)a, na)$ abzuziehen ist. Diese Prozedur ist sukzessive fortzusetzen, bis die Q_0 -Funktion an der Stelle $x=0$ erhalten wird. Diese Q_0 -Funktion, die die Abstandsverteilungsfunktion innerhalb einer Gitterzelle repräsentiert, ist dann zur Berechnung von $\varphi_0(x)$ zu entfalten.

Ein wesentlicher Vorzug dieser Analyse besteht darin, daß eine Polydispersität der Bausteingruppen, dadurch gegeben, daß neben 3-er z.B. auch 2-er und 4-er Gruppen auftreten können, ohne Einfluß bleibt. Diese Polydispersität ändert lediglich die Gewichte der einzelnen Q_0 -Funktionen, hat aber auf die Prozedur der sukzessiven Spiegelung und Subtraktion mit dem Resultat der Q_0 -Funktion am Orte $x=0$ keinen Einfluß.

Gitterstörungen lassen in dieser Darstellung die innerste Q_0 -Funktion unverändert. Sie bewirken aber, daß die Q_0 -Funktionen an den Stellen na statt mit Punktfunktionen mit immer breiter werdenden Abstandsstatistikfunktionen zu falten sind und damit "verschmiert" werden. Aus Abbildung 2 ist außerdem zu ersehen, daß dann gerade der Außenteil der innersten Q_0 -Funktion unsicher und fehlerhaft werden kann, weil hier der prozentuale Anteil der am Orte $x=a$ gespiegelten und möglicherweise "verschmierten" Q_0 -Funktion am größten ist.

Als charakteristischer Unterschied zur Fouriersynthese ist festzuhalten: Es wird eine Umordnung der gesamten durch die Streuintensitätsfunktion zugänglichen Informationen vorgenommen. Ist die Separation der Abstandsverteilungsfunktion einer einzelnen Gitterzelle möglich und liegt auch das Hauptgewicht auf der Untersuchung der Struktur dieser Gitterzelle, so ist der Weg der Analyse über die Q -Funktion vorzuziehen.

Der wohl schwierigste unter den Teilschritten dieser Analyse ist der letzte, die Ziehung der Faltungswurzel aus $Q_0(x)$. Ein dazu geeignetes Verfahren wird im nächsten Kapitel beschrieben.

1.c) Ein Verfahren zur Entfaltung der Q_0 -Funktion symmetrischer Strukturen im eindimensionalen Fall

Das Problem besteht in der Auflösung der Integralgleichung

$$(9) \quad Q_0(x) = \int_0^x \varphi_0(y) \varphi_0(y-x) dy$$

nach $\varphi_0(x)$.

Hosemann und Bagchi [3] haben hierzu einen Weg angegeben, der bei einer Rasterung der Q_0 -Funktion in N Werte eine Berechnung der $\varphi_0(x)$ -Werte mittels Faltungspolynomen von $Q_0(x)$ bis zur N -ten Ordnung gestattet. Für eine praktische Durchführung ist dieses Verfahren vor allem deswegen nicht geeignet, weil sich durch die vielen Faltungen der ursprüngliche Fehler von $Q_0(x)$ unnötig vergrößern würde.

Kreutz [2] hat zur Lösung von (9) eine Methode angegeben, die in einer einfachen Umkehr dieser Gleichung besteht, sofern $Q_0(x)$ numerisch gerastert dargestellt ist. Er erhält sukzessive, ausgehend von den Werten von $Q_0(x)$ für großes x , die entsprechenden $\varphi_0(x)$ -Werte. Sein äußerer Startwert ist dabei $\varphi_0(n) = \sqrt{Q_0(2n)}$. Die Nachteile seines Verfahrens sind:

- a) besonders großer Einfluß der ungenauesten Werte von $Q_0(x)$ im Außenteil der Kurve
- b) hat $Q_0(x)$ eine oder mehrere Nullstellen, so "schaukelt" sich der Fehler besonders schnell herauf und es kommt zu Oszillationen von $\varphi_0(x)$ zwischen $\pm K$ mit $K \rightarrow \infty$. Dies tritt um so eher auf, je feiner man die Rasterung wählt.

Aus diesem Grunde bestand die Notwendigkeit, ein neues Verfahren zu suchen.

Zur Auflösung der Gleichung (9) nach $\varphi_0(x)$ wird eine Darstellung von $\varphi_0(x)$ bzw. $Q_0(x)$ als Fourierreihe gewählt und ein

Algorithmus entwickelt, der die Durchführung der Rechnung auf einer elektronischen Rechenmaschine in wenigen Sekunden gestattet.

Die Ladungsverteilung eines symmetrischen Bausteins der Länge L sei gegeben durch

$$(10) \quad \varphi_0(x) = a_0 + \sum_k a_k \cos kx \quad \text{im Intervall } -\pi \leq x \leq +\pi$$

Das Intervall $(-L/2, +L/2)$ läßt sich stets durch eine einfache Transformation in das Intervall $(-\pi, +\pi)$ überführen.

Die Q_0 -Funktion eines einzelnen Bausteins kann trotz dieses Ansatzes einer periodischen Funktion erhalten werden, sofern nur die Integrationsgrenzen passend gewählt werden.

Aus Abb. 3 kann ersehen werden, daß diese Integrationsgrenzen $g_1 = -\pi+x$ und $g_2 = +\pi$ sind.

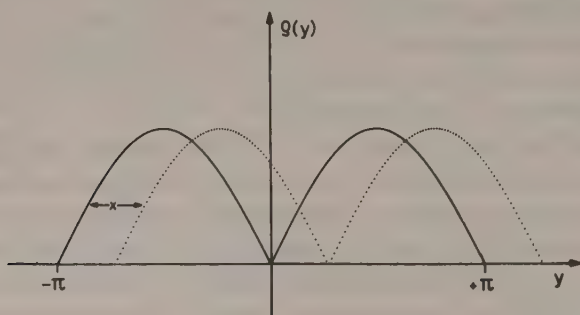


Abb. 3 Kennzeichnung der Integrationsgrenzen bei der Berechnung des Faltungsquadrats $Q_0(x)$ mittels Fourierreihen (—=Modellfunktion,= Abbild ("Geist") der Modellfunktion)

Die wesentlichen Schritte des Verfahrens seien nun kurz charakterisiert. Einzelheiten der Rechnung sind dem Anhang zu entnehmen.

Gehen wir mit dem Ansatz (10) in die Gleichung (9) und integrieren, so ergibt sich

$$(11) \quad Q_0(x) = a_0^2(2\pi-x) \sum_{k=1}^N \frac{1}{2} a_k^2 ((2\pi-x) \cos kx - \frac{\sin kx}{k}) + \\ + \sum_{k=1}^N 2a_k \cos kx \sum_{\substack{l=0 \\ l \neq k}}^N \frac{a_l (-1)^{k+l}}{(l^2 - k^2)}$$

Das Entfaltungsverfahren auf der Basis der Fourieranalyse, im folgenden abgekürzt FAE-Verfahren genannt, besteht nun darin, aus den Fourierkoeffizienten der Funktion $Q_0(x)$ im Intervall $(0, 2\pi)$ die Fourier-Cos-Koeffizienten a_k der Funktion $\varphi_0(x)$ zu berechnen.

Der erste Schritt dieses FAE-Verfahrens ist somit die Berechnung folgender Integrale

$$(12 \text{ a}) \quad IC(k) = \int_0^{2\pi} Q_0(x) \cos kx \, dx \quad k=0, 1, 2, \dots, N$$

$$(12 \text{ b}) \quad IS(k) = \int_0^{2\pi} Q_0(x) \sin kx \, dx \quad k = 1, 2, \dots, N$$

Aus den Cos-Koeffizienten von $Q_0(x)$, gegeben durch (12 a), lassen sich sofort die Beträge der Koeffizienten a_k von $\varphi_0(x)$ entnehmen. Die Integration ergibt hier

$$(13) \quad a_0^2 = \frac{IC(0)}{2\pi^2} \quad ; \quad a_k^2 = \frac{2IC(k)}{\pi^2} \quad k = 1, 2, \dots, N$$

Die Sin-Koeffizienten von $Q_0(x)$ aus Gleichung (12 b) liefern N weitere Bestimmungsgleichungen, die zur Festlegung der Vorzeichen der a_k von $\varphi_0(x)$ dienen. Die Integration von (12 b) führt auf folgendes Gleichungssystem:

$$(14) \quad \frac{a_0}{2} = \sum_{\substack{l=1 \\ l \neq k}}^N \frac{(-1)^{l-1}}{(k^2 - l^2)} |a_l| x_l - f(IS, IC) |a_k| x_k \quad k = 1, 2, \dots, N$$

wobei $x_1 = \text{signum } a_1$ gesetzt ist und f eine Funktion bedeutet, deren Abhängigkeit von den Größen $IS(k)$ und $IC(k)$ bekannt ist. Die Summationsgrenze N und damit der Rang des Gleichungssystems kann aus der Beziehung für $Q_0(0)$ oder aus der Parseval'schen Gleichung ermittelt werden.

Aus (14) lassen sich also N Vorzeichen bestimmen. Das erste, $(N+1)$ -te, Vorzeichen kann stets frei gewählt werden, da eine Vertauschung sämtlicher Vorzeichen der a_k von $\varphi_0(x)$ den Wert von $Q_0(x)$ nicht ändert.

An dieser Stelle sei noch einmal betont, daß die Entfaltung der Q_0 -Funktion einer symmetrischen Elektronendichteverteilung formal stets nur eine zweideutige Lösung liefern kann, wobei die zweite Lösung aus der ersten durch eine Spiegelung an der x -Achse hervorgeht, entsprechend einer Vertauschung sämtlicher Vorzeichen der a_k . Dieses geht schon aus der Definition der Q -Funktion hervor, denn der Wert eines Paares ändert sich nicht bei der alleinigen Vertauschung des Vorzeichens beider Partner. Zur Umgehung dieser Zweideutigkeit sind bekanntlich die beiden Verfahren des "isomorphen Ersatzes" und der "Schweratomderivate" entwickelt worden.

Dieses Fourier-analytische Entfaltungsverfahren (FAE-Verfahren) wurde zunächst mehrfach und erfolgreich an Modellfunktionen getestet. Zu einer beliebigen symmetrischen Ausgangsfunktion $\varphi_0(x)$ wurde durch numerische Integration die zugehörige Q_0 -Funktion bestimmt. Aus dieser Q_0 -Funktion wurde über das FAE-Verfahren φ_c berechnet und mit der Ausgangsfunktion $\varphi_0(x)$ verglichen. In Abbildung (4) und Abbildung (5) ist ein solcher Test dargestellt.

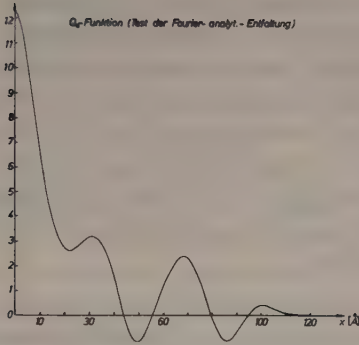


Abb. 4 Q_0 -Funktion, erhalten durch numerische Integration nach der Simpson'schen Regel aus untenstehender φ_0 -Funktion (willkürliches Modell)

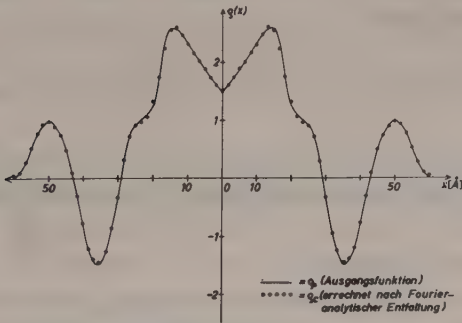


Abb. 5 Test des FAE-Verfahrens
Vergleich der φ_0 -Funktion (Ausgangsfunktion) mit der nach dem FAE-Verfahren aus Q_0 erhaltenen Funktion $\varphi_c(x)$

Wie die Abbildungen (4) und (5) zeigen, ist die Anwendung des FAE-Verfahrens auf Modellfunktionen erfolgreich. Die Genauigkeit ließe sich hier durch feinere Rasterung und Übergang zu "doppeltgenauen" Zahlen noch weiter steigern. Das Fortran-Programm, das zur Ausführung des FAE-Verfahrens geschrieben wurde, hat zum Beispiel auf der Rechenmaschine Siemens 4004/55 des Rechenzentrums der Universität Köln eine Laufzeit von nur 15 Sekunden. Als charakteristische Vorzüge des Fourier-analytischen Entfaltungsverfahrens sind festzuhalten:

- 1.) Zur Berechnung eines jeden Wertes von $Q_0(x)$ werden sämtliche Werte von $Q_0(x)$ simultan verwendet.
- 2.) Die Rasterung der Q_0 -Funktion läßt sich beliebig verfeinern ohne nachteiligen Einfluß auf die Genauigkeit des Verfahrens.

Es sei noch auf weitere Anwendungsmöglichkeiten dieses FAE-Verfahrens hingewiesen. Die Entfaltung der Q -Funktion antisymmetrischer Strukturen

$$(15) \quad \varphi(x) = \sum_{k=1}^N a_k \sin kx \quad -\pi \leq x \leq +\pi$$

mit

$$(16) \quad Q(x) = \sum_{k=1}^N \frac{a_k^2}{2k} ((2\pi - x) \cos kx - \frac{\sin kx}{k}) + \sum_{k=1}^N 2a_k \sin kx \sum_{\substack{l=0 \\ l \neq k}}^N \frac{1}{l+k} \frac{a_l (-1)^{k-l}}{(1^2 - k^2)}$$

ist auf ähnliche Weise möglich.

Weiterhin ist dieses Verfahren zur Gewinnung einer nullten Näherung bei der Entfaltung eines Faltungsprodukts im eindimensionalen Fall verwendbar.

2. Die Streuintensität eines eindimensionalen
parakristallinen Schichtgitters, aufgebaut aus
nichtsymmetrischen Bausteinen bei regelmäßiger
Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung

In Kapitel 1.b) konnte der Einfluß von Gitterstörungen nur qualitativ diskutiert werden.

Die Gitterstörungen zweiter Art, die gerade bei Schichtgittern hochmolekularer organischer Bausteine auftreten können, sind dadurch gekennzeichnet, daß die Struktureinheiten nicht mehr auf ausgezeichneten Gitterplätzen liegen, sondern daß nur noch eine Nahordnung existiert, die durch eine Abstandsstatistik dieser Bausteine zu nächsten Nachbarn beschrieben wird. Diese Abstandsstatistik zu nächsten Nachbarn $H_1(x)$ ist abhängig von der Gestalt der Subeinheiten und der Wechselwirkung zwischen ihnen. Die gesamte Abstandsstatistikfunktion $z(x)$ geht durch Mehrfach-Faltungen aus der Abstandsstatistikfunktion zu nächsten Nachbarn $H_1(x)$ hervor.

Zur quantitativen Beschreibung des Streuverhaltens solcher Strukturen mit Gitterstörungen zweiter Art ist die Theorie des Parakristalls von Hosemann [3],[4],[5] besonders gut geeignet.

Für ein eindimensionales parakristallines Schichtgitter aus nichtsymmetrischen Bausteinen bei regelmäßiger Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung, sei nun anhand dieser Theorie die Streuintensität berechnet.

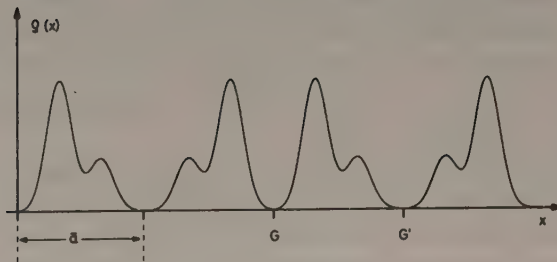


Abb. 6 Modell eines eindimensionalen Gitters mit abwechselnder Folge von Bild und Spiegelbild des nichtsymmetrischen Bausteins

Für die Rechnung wird zunächst die gleiche Abstandsstatistik in den verschiedenen Grenzbereichen G und G' angenommen und der Parakristall als unendlich ausgedehnt angesehen. Der Einfluß unterschiedlicher Abstandsstatistiken für G und G' und der einer endlichen Kristallitgröße kann am Endergebnis der Rechnung diskutiert werden.

Als Abstandsstatistikfunktion $H_1(x)$ wird eine Gauß'sche Normalverteilung gewählt

$$(17) \quad H_1(x) = \frac{1}{\Delta \sqrt{2\pi}} e^{-1/2((x-\bar{a})/\Delta)^2}$$

mit

$$(18) \quad \int_{-\infty}^{+\infty} H_1(x) dx = 1$$

$$(19) \quad \int_{-\infty}^{+\infty} x H_1(x) dx = \bar{a}$$

$$(20) \quad \int_{-\infty}^{+\infty} (x-\bar{a})^2 H_1(x) dx = \Delta^2$$

Der g-Wert, ein Maß für die Schwankungsbreite der Abstände, ist dabei definiert durch

$$(21) \quad g = \sqrt{\frac{\bar{x}^2 - \bar{\bar{x}}^2}{\bar{x}^2}} = \frac{\Delta}{\bar{x}}$$

Die Wahl einer symmetrischen Abstandsverteilung $H_1(x)$ bedeutet zweifellos eine gewisse Willkür. Mögliche Abweichungen von der Symmetrie von $H_1(x)$ werden dabei als vernachlässigbar angesehen. Wie die spätere Auswertung zeigen wird, besteht bisher jedoch kein zwingender Anlaß, eine kompliziertere, asymmetrische Abstandsstatistik $H_1(x)$ einzuführen.

Die Elektronendichteverteilung in x-Richtung innerhalb eines als Bezugspunkt gewählten Bausteins sei gegeben durch $\varphi_0(x)$, die dazu spiegelbildliche sei bezeichnet als $\varphi_{0-}(x)$.

Das Faltungsquadrat der Elektronendichteverteilung $Q_0(x)$ ist für beide Fälle das gleiche, das Faltungsprodukt $\widehat{\varphi_0 \varphi_0}$ werde $Q_1(x)$ genannt, das Faltungsprodukt $\widehat{\varphi_{0-} \varphi_{0-}}$ sei mit $Q_2(x)$ bezeichnet.

Dann ist die gesamte Q-Funktion gegeben durch die Summe der Faltungen von $Q_0(x)$ mit den entsprechenden Abstandsstatistiken an den Stellen $0, \pm 2\bar{a}, \pm 4\bar{a}, \dots, \pm 2n\bar{a}$, während an den Stellen $\pm \bar{a}, \pm 3\bar{a}, \dots, \pm (2n-1)\bar{a}$ die jeweilige Abstandsstatistik mit der Summe der Faltungsprodukte $Q_1(x)$ und $Q_2(x)$ zu falten ist:

$$(22) \quad Q(x) = Q_0(x)\delta(x-0) + 1/2(Q_1+Q_2)\widehat{H_1(x)} + Q_0(x)\widehat{H_2(x)} + \dots$$

$H_n(x)$ ist dabei gegeben durch die $(n-1)$ -fache Faltung von $H_1(x)$ mit sich selbst

$$(23) \quad H_n(x) = \widehat{H_1 H_1 \dots H_1}^{(n-1)\text{mal}}$$

Es ist weiterhin

$$(24) \quad H_{-n}(x) = H_n(-x)$$

Die Fouriertransformierte von $H_1(x)$ ist dann

$$(25) \quad F(b) = e^{-2\pi^2 b^2 \Delta^2} e^{-2\pi i a \bar{a}} = u e^{-iv}$$

Weiterhin sei die Fouriertransformierte von $Q_0(x)$ gegeben durch $A+iB$, woraus folgt

$$(26) \quad \mathcal{F}(Q_0) = A^2 + B^2$$

$$(27) \quad \mathcal{F}(Q_1) = A^2 - B^2 + 2iAB$$

$$(28) \quad \mathcal{F}(Q_2) = A^2 - B^2 - 2iAB$$

Für die Streuintensität $I(b)$, die Fouriertransformierte von $Q(x)$, resultiert dann unter Benutzung des Faltungssatzes (5):

$$(29) \quad I(b) = (A^2+B^2)(1+2\operatorname{Re}\sum_n F^{2n}) + (A^2-B^2)(\sum_n 2\operatorname{Re} F^{2n+1})$$

$$(30) \quad = A^2(2\operatorname{Re}(1+\sum F^n) - 1) + B^2(4(\operatorname{Re}\sum 1+F^{2n}) - 2(\operatorname{Re}\sum(1+F^n) - 1))$$

Mit $\operatorname{Re}(1+\sum F^n) = \operatorname{Re}\frac{1}{1-F}$, wobei Re wie üblich den Realteil einer komplexen Zahl bezeichnet, ergibt sich schließlich

$$(31) \quad I(b) = A^2(b) \operatorname{Re} \frac{1+F}{1-F} + B^2(b) \operatorname{Re} \frac{1-F}{1+F}$$

Setzen wir (25) in (31) ein so wird daraus

$$(32) \quad I(b) = A^2(b) \frac{1-u^2}{1+u^2-2u\cos v} + B^2(b) \frac{1-u^2}{1+u^2+2u\cos v}$$

$$= A^2(b) Z(b) + B^2(b) Z'(b)$$

wobei $u = |F|$ und $v = \arg F$ bedeutete.

Dieses Ergebnis zeigt, daß die Intensitätsfunktion von zwei verschiedenen parakristallinen Gitterfaktoren $Z(b)$ und $Z'(b)$ bestimmt wird, von denen der erste mit dem Quadrat des Realteils der Strukturamplitude des Bausteins, der zweite mit dem Quadrat des Imaginärteils der Strukturamplitude des Bausteins zu multiplizieren ist. Der relative Verlauf

dieser beiden Gitterfaktoren für ein parakristallines Gitter mit dem g -Wert $g = 0,2$ ist in Abbildung 7 wiedergegeben.

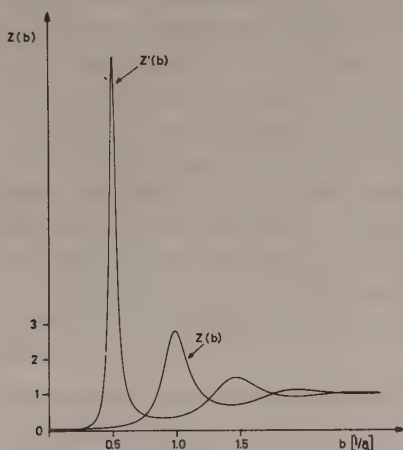


Abb. 7 Die beiden parakristallinen Gitterfaktoren $Z(b)$ (vom symmetrischen Teil des Bausteins, Periode $1/\bar{a}$) und $Z'(b)$ (vom antisymmetrischen Anteil des Bausteins, mit einer dominierenden 1. Ordnung bei einem Braggwert von $1/b = 2\bar{a}$)

In der Superposition erscheinen also drei nahezu äquidistante Maxima bei Braggwerten von ca. $2\bar{a}$, $\bar{a}$ und $2\bar{a}/3$, von denen das erste und das dritte Maximum von der Antisymmetrie des Bausteins herrühren.

Der Einfluß einer endlichen Kristallitgröße (N Bausteine) kann dargestellt werden als Faltung des Gitterfaktors $Z(b)$ bzw. $Z'(b)$ mit dem Gestaltfaktor $|S(b)|^2$, wobei $S(b)$ die Fouriertransformierte der in Gleichung (8) definierten Gestaltsfunktion bedeutet. Für ein Gitter aus N Bausteinen ist der entsprechende Gitterfaktor dann

$$(33) \quad Z_N(b) = \overbrace{Z_\infty(b)} |S(b)|^2$$

Die Verbreiterung der Peaks von $Z(b)$ bzw. $Z'(b)$ ist somit abhängig von der Halbwertsbreite der Funktion $|S(b)|^2$, die in guter Näherung gegeben ist durch $B_{1/2} = 1/N\bar{a}$.

III. Experimente und Auswertung

Die Untersuchungen wurden durchgeführt an Thylakoiden des photosynthetisch aktiven, schwefelfreien Purpurbakteriums *Rhodospseudomonas spheroides*. Die Thylakoide liegen hier als kugelförmige Vesikel im Cytoplasma verteilt vor.

Nach Schmitz [6] bestehen sie zu 53% aus Proteinen und zu 37% aus ätherlöslichen Lipiden. (Lipide sind Verbindungen, in denen Fettsäuren esterartig verknüpft sind). Hinsichtlich ihrer Anzucht und Isolierung sei auf die Arbeiten von Wiesner [7], Menke und Weichan [8] sowie Giesbrecht und Drews [9] verwiesen. Für die Herstellung der Präparate einschließlich der Anzucht der Bakterien danke ich den Herren Prof. Menke, cand. rer. nat. Reuss und Fr. E. Schölzel.

Die isolierten Thylakoide dienten dann als Material für die folgenden Experimente:

1. Messung der isotropen Röntgenkleinwinkelstreuung von Thylakoiden in wässriger Suspension
2. Messung der meridionalen Röntgenkleinwinkelstreuung von angetrockneten Thylakoiden
3. Messung der meridionalen Röntgenkleinwinkelstreuung von angetrockneten Thylakoiden nach Extraktion der Lipide mit wasserfreiem Aceton

Die Röntgenkleinwinkelbeugungsexperimente wurden ausgeführt in einer Kratky-Kammer [10] und in einer Streukammer, in der durch Totalreflexion an einer planparallelen Glasplatte von hoher Oberflächengüte ein schmaler intensitätsstarker Primärstrahl von ausreichender Monochromasie ausgeblendet wird (Schnabel, Röde, Hosemann [11]). Letztere Kammer hat bei vergleichbaren Bedingungen den Vorteil einer höheren Primärintensität. Beide Kammern haben eine strichförmige Kollimation des Primärstrahls. Außerdem stand eine Streukammer mit punktförmiger Kollimation des Primärstrahls (Kiessig-Kammer [12]) zur Verfügung. Als Strahlenquelle diente eine Cu-Feinstruktur-röhre mit Strichbrennfleck (1 mm × 10 mm), die von einem Siemens-Kristalloflex 4 betrieben wurde.

Für die Kratky-Kammer wurde eine Monochromasie des Strahlenbündels durch einen Quarzmonochromator (gebogener und angeschliffener Johansson-Kristall) erreicht, für die Kiessig-Kammer war die Filterung der Strahlung durch selektive Schwächung der K_{β} -Linie mit einem Nickelplättchen (Dicke $d=0,02\text{mm}$) ausreichend.

Die Streukurven wurden fotografisch aufgenommen (Film-material Doneo Adox Clear Base), photometriert wurde mit dem Doppelstrahl-Mikrodensitometer von Joyce-Loebl. Die Belichtungszeiten lagen zwischen einer halben Stunde und 300 Stunden. Die Streuintensitätskurven von unorientierten Präparaten, die in einer Kammer mit strichförmigem Primärstrahl untersucht wurden, mußten hinsichtlich des Kollimationseinflusses korrigiert ("entschmiert") werden. Das geschah nach dem Verfahren von Lake [13] auf einer elektronischen Rechenmaschine vom Typ Siemens 4004/55 des Rechenzentrums der Universität Köln.

Die Thylakoidplättchen (angetrocknete Thylakoide) wurden auf folgende Weise hergestellt:

Zunächst waren nach Aufbrechen der Zellwände der Bakterien die Thylakoide durch fraktionierte Zentrifugation isoliert worden. Die während der letzten Zentrifugation sedimentierten Thylakoide wurden dann auf eine planparallele Glasplatte gestrichen und unter Zugabe einiger Tropfen destillierten Wassers so verteilt, daß sich ein breiter und glatter Fleck (Durchmesser ca. 4cm) ergab. Nach einer Trocknung von 12-24 Stunden in Luft und anschließend 1-2 Stunden in einem Exsikkator mit Kupfersulfat hatten sich aus dem ursprünglich einheitlichen Komplex sehr viele kleine Plättchen gebildet, die locker auf der Glasplatte nebeneinander lagen und sich leicht mit einer Rasierklinge abheben ließen. Die Plättchen bleiben dabei glatt und bekommen keine Wellungen. Die Dimensionen der Plättchen lagen zwischen 0,5 - 2,0 mm Breite, 0,5 - 8,0 mm Länge und 40 - 80 μ Dicke.

Durch das Antrocknen auf der Glasplatte erhält man abgeplattete Thylakoide. Dabei werden diese in sich geschlossenen

Doppelmembranen vorzugsweise parallel zur Plättchenoberfläche orientiert. Bei einer Bestrahlung mit einer Primärstrahlrichtung parallel zur Plättchenebene sollte man daher in Schichtrichtung (auf dem Meridian) die Streuung eines eindimensionalen Schichtgitters dieser Membranen erhalten, geschichtet allerdings in abwechselnder Reihenfolge von Bild und Spiegelbild der Membran.

Es ist möglich, aus derartigen Plättchen die Lipide zu extrahieren, ohne daß dabei die Plättchen ihre Form verlieren. Lediglich ihre Dicke verringert sich dabei auf ungefähr den halben Wert (Menke [14]). Die Extraktion wird mit organischen Lösungsmitteln vorgenommen, im vorliegenden Fall wurde wasserfreies Aceton benutzt, das ca. 80-90 % aller vorhandenen Lipide löst (Fleischer et al. [15]).

Wir beginnen nun mit der Auswertung der Kleinwinkelstreuung isolierter Thylakoide in wässriger Suspension.

1.) Die isotrope Röntgenkleinwinkelstreuung isolierter Thylakoide in wässriger Suspension

Die nach dem Verfahren von Schmitz [6] isolierten Thylakoide wurden als verdünnte wässrige Suspension in eine Kapillare gefüllt und in einer Röntgenkleinwinkelstreu-kammer vom Kratky-Typ untersucht. Die mit strichförmigem Primärstrahl aufgenommene Streukurve mußte anschließend hinsichtlich des Kollimationseinflusses korrigiert werden. Bereits Langridge, Barron und Sistroff [16] haben die Röntgenkleinwinkelstreuung von Thylakoiden dieses Bakteriums in wässriger Suspension gemessen. Sie fanden vier Maxima im Innenteil der Streukurve, entsprechend Bragg'schen Werten von $\sim 240 \text{ \AA}$, $170 \text{ \AA}$ und $131 \text{ \AA}$. Das erste Maximum konnten sie nicht mehr auflösen. Außerdem registrierten sie ein breites diffuses Maximum bei einem Braggwert von ca. $50 \text{ \AA}$.

Die inneren Maxima wurden von ihnen interpretiert als Nebenmaxima des Strukturfaktors von Hohlkugeln mit einem Radius von $295 \text{ \AA}$. Ihre Rechnungen ergaben, daß die Schalendicke $100 \text{ \AA}$ nicht übersteigen könne und sie erzielten eine "beste" Anpassung bei einer Dicke von $60-80 \text{ \AA}$ und gleichförmiger Dichteverteilung in der Schale.

Die eigenen Untersuchungen der Streuung dieses Typs sind mit einer höheren Winkelauflösung durchgeführt worden. Die "entschmierte" Streukurve zeigt wiederum mehrere Nebenmaxima, wobei auf Grund des besseren Auflösungsvermögens jetzt auch das erste Maximum gut zu registrieren ist. Die Maxima liegen bei Braggwerten von $406 \text{ \AA}$, $247 \text{ \AA}$, $175 \text{ \AA}$ und $133 \text{ \AA}$. Sie stimmen damit innerhalb der Fehlergrenzen gut mit den von Langridge et alii [16] gemessenen überein.

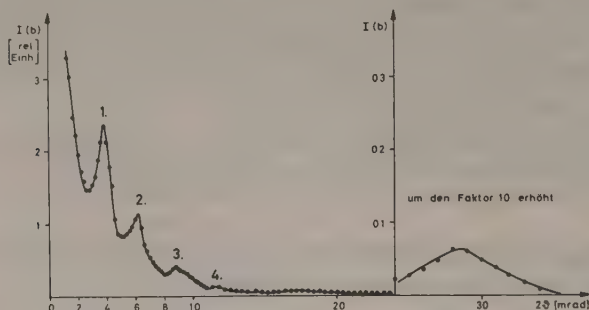


Abb.8 "Entschmierte" Röntgenkleinwinkelstreucurve von Thylakoiden des Bakteriums *Rhodospseudomonas spheroides* in wässriger Suspension (Belichtungszeit 300 Stunden bei 30 kV und 15 mA, Cu- K_{α} -Strahlung, $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) Auf der Abszisse ist der Streuwinkel aufgetragen, der bekanntlich gemäß $|b| = 2\sin\theta/\lambda$ mit dem Betrag des Beugungsvektors b zusammenhängt

In der Auswertung gehen wir den Weg über die Fourierinversion der Streuamplitude $F(b)$, den auch Anderegg et alii [17], [18], [19] in ihren Röntgenkleinwinkeluntersuchungen der radialen Dichteverteilung von kleinen, RNS-haltigen Viren in Lösung beschritten haben. Dabei wird die Voraussetzung gemacht, daß die Dichteverteilung radialsymmetrisch sei, zumindest jedoch, daß die Dichteunterschiede in Richtung der Winkelvariablen vernachlässigbar gegenüber den Dichteschwankungen in radialer Richtung seien.

Die Strukturamplitude $F(b)$ eines Partikels mit einer kugelsymmetrischen Dichteverteilung ist gegeben durch

$$(33) \quad F(b) = \frac{2}{b} \int_0^R \rho(r) r \sin 2\pi b r \, dr$$

Durch Fourierinverstransformation kann hieraus die radiale Elektronendichteverteilung $\rho(r)$ erhalten werden:

$$(34) \quad \rho(r) = \frac{2}{r} \int_0^\infty F(b) b \sin 2\pi b r \, db$$

Zunächst wird die Strukturamplitude $F(b)$ durch Wurzelziehen aus der Intensitätsfunktion $I(b)$ gewonnen, wobei das Vorzeichen von Maximum zu Maximum zu alternieren ist. Die Begründung dafür ist, daß die Streuamplitude von Hohlkugeln mit einer homogenen Dichteverteilung in der Schale stets ein positives Nullmaximum und anschließend Nebenmaxima mit alternierendem Vorzeichen aufweist. Außerdem wird dabei die Annahme gemacht, daß die Schalendicke klein gegenüber dem Hohlkugeldurchmesser ist, so daß sich der Einfluß einer radialen Dichteverteilung in der Schale auf die Vorzeichensequenz erst bei größeren Streuwinkeln bemerkbar machen kann. Letztere Annahme wird durch elektronenmikroskopische Befunde von Menke und Weichan [8] sowie Giesbrecht und Drews [20] gestützt.

Diese Vorzeichenwahl ist nur im inneren Teil der Streukurve gerechtfertigt, in welchem sich die Maxima zweifelsfrei den Nebenmaxima des Strukturfaktors von Hohlkugeln zuordnen lassen. Im äußeren Teil der Funktion $F(b)$ ist deshalb ein Dämpfungsfaktor in Form einer Gaußkurve eingeführt worden, um sowohl den Einfluß der dort vorhandenen Willkür in der Vorzeichenwahl als auch den Abbrucheffekt möglichst gering zu halten.

Dieser Eingriff bringt es allerdings mit sich, daß Informationen über die Feinstruktur der Kugelschale vorerst nicht zu erhalten sind.

In Abbildung 9 ist gezeigt, wie auf diese Weise aus der Kurve $b\sqrt{I(b)}$ die Strukturamplitude $F(b)$ ermittelt wurde.

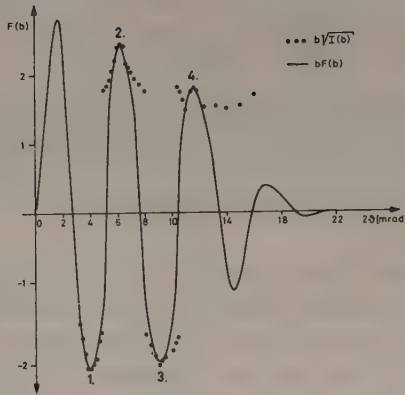


Abb.9 Wahl der Vorzeichen von $F(b)$ für die Fourierinverstransformation. Die Kurve $bF(b)$ ist in der näheren Umgebung der vier Nebenmaxima der Kurve $\pm b\sqrt{I(b)}$ angepaßt worden. Die Zwischenwerte wurden interpoliert. Außerhalb des vierten Nebenmaximums ist eine Gaußfunktion als Dämpfungsfaktor eingeführt worden. Weitere Einzelheiten im Text.

Aus der Streuamplitude der Abbildung 9 wird nun gemäß Gleichung (34) auf direktem Wege durch Fourierinverstransformation die in Abbildung 10 wiedergegebene Struktur $\varphi(r)$ gewonnen. Sie zeigt bei $r_m = 296 \text{ \AA}$ ein diskretes, deutlich ausgeprägtes Maximum mit einer Halbwertsbreite von $70 \text{ \AA}$. Diese Halbwertsbreite von $70 \text{ \AA}$ kann interpretiert werden als Dicke der Schale (Membran), wobei in Bezug auf die Membran noch zu präzisieren wäre, daß diese Breite sich nur auf den Teil der Membran beziehen kann, der sich positiv von der Dichte des umgebenden Mediums, des Wassers, unterscheidet. Negative Dichten, natürlich relativ zur mittleren Dichte, werden durch diesen Parameter nicht erfaßt.

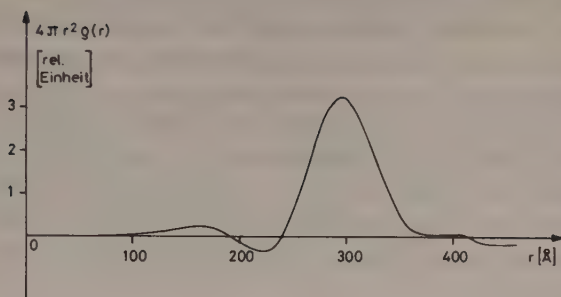


Abb.10 Die radiale Elektronendichteverteilung $4\pi r^2 \rho(r)$ von Thylakoiden in wässriger Suspension nach Fourierinverstransformation der Streuamplitude $F(b)$ im Bereich der vier Nebenmaxima der Streukurve. Mittlerer Kugelradius $r_m = 296 \text{ \AA}$, Halbwertsbreite des Peaks bei $296 \text{ \AA}$ ist $B_{1/2} = 70 \text{ \AA}$. Details über die Feinstruktur der Kugelschale können hieraus nicht entnommen werden.

Wie Abbildung 8 zeigte, sinkt die Streuintensität zwischen den einzelnen Nebenmaxima nicht auf Null ab, wie es in einem idealen System von monodispersen Hohlkugeln der Fall wäre. Dies kann durch mehrere Gründe bedingt sein, wie

- a) Polydispersität der Kugelradien
- b) Abweichungen der Thylakoide von der Kugelsymmetrie
- c) zusätzliches Auftreten einer kontinuierlichen Kleinwinkelstreuung von Teilchen mit Durchmessern von einigen hundert Angström
- d) Flächenstruktur der Thylakoidoberfläche mit Inhomogenitäten in der Größenordnung von einigen hundert Å.

Es läßt sich jedoch zeigen, daß auf Grund der Tatsache, daß überhaupt vier Nebenmaxima auftreten, eine etwaige Polydispersität der Kugelradien nicht größer als ca. 10% sein könne.

Anderegg [17] beobachtet den gleichen Effekt des Fehlens von Nullstellen der Intensitätsfunktion zwischen den Nebenmaxima bei seiner Untersuchung von kugeligen Viren in Lösung. Er führt ihn auf Abweichungen der Viren von der idealen Kugelgestalt zurück. Beide Einflüsse, Polydispersität und Abweichungen von der Kugelgestalt, führen jedoch in erster Linie dazu, daß die Minima weniger stark ausgeprägt werden, während sich Lage und Höhe der Nebenmaxima relativ wenig ändern. Durch das Interpolieren der Werte von $F(b)$ zwischen den Maxima ist daher ihre Auswirkung auf diese Auswertemethode gering.

Zur Kontrolle des Einflusses des äußeren Teils der Streukurve sind weitere Fourierinverstransformationen durchgeführt worden. Es wurde dabei auch der Außenteil der Streukurve ohne Dämpfungsfaktor mit zur Transformation herangezogen und der Prozeß des Vorzeichenumklappens wurde vom 4. Maximum an auf mehrere verschiedene Arten extrapoliert. Dies führte erwartungsgemäß zu zusätzlichen Oszillationen von $\rho(r)$, jedoch blieben die oben definierten Maße für den mittleren Kugelradius r_m sowie die Halbwertsbreite des bei ca. 300 Å liegenden Maximums bemerkenswert konstant. Das Ergebnis dieser Rechnungen ist in Tabelle 1 zusammengestellt.

Nummer der Fourier- inverstransformation	Mittlerer Kugelradius r_m	gemessene Halbwertsbreite
I	291 Å	68 Å
II	292 Å	74 Å
III	296 Å	63 Å
IV	296 Å	67 Å

Tabelle 1 Mittlerer Kugelradius r_m und Schalendicke ($B_{1/2}$) nach verschiedenen Fourierinverstransformationen, die sich durch die Vorzeichensequenz im Außenteil der Streuamplitude $F(b)$ unterscheiden

2.) Die meridionale Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide

Bei einer Bestrahlung der angetrockneten Thylakoide senkrecht zur Flächennormalen der Schichtebene zeigt die Röntgenkleinwinkelstreucurve in Richtung der Flächennormalen (auf dem Meridian) folgende Maxima:

1. ein schwaches Maximum bei $112 \text{ \AA}$
2. ein sehr starkes Maximum bei $56 \text{ \AA}$
3. ein schwaches Maximum bei $38 \text{ \AA}$
4. ein sehr schwaches breites Maximum bei $22 \text{ \AA}$

Diese Streukurve wurde mit einer Kammer mit strichförmigem Primärstrahl aufgenommen. Eine analoge Aufnahme in einer Streukammer mit punktförmiger kollimation (Kiessig-Kammer) zeigt die relativ gute Orientierung der abgeplatteten Thylakoide in der Probe (Abbildung 11).

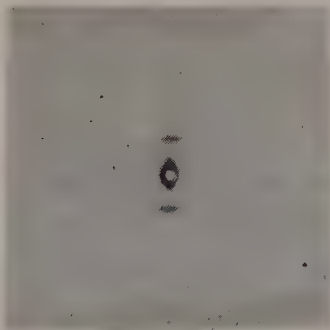


Abb.11 Kiessig-Aufnahme der Meridionalstreuung
angetrockneter Thylakoide

Bei einer derartigen Orientierung kann auf eine Entschmierung der Streukurve verzichtet werden, wobei hinzuzufügen ist, daß die von der Orientierung unabhängige Breitenverschmierung zu vernachlässigen ist, da die Breite des Primärstrahls klein gegenüber den Reflexbreiten ist.

Die einzige Korrektur, die an der meridionalen Streukurve angetrockneter Thylakoide vorgenommen werden muß, ist die hinsichtlich des Querschnitts der gestapelten Thylakoide. Gehen wir von der Vorstellung aus, daß nach dem Antrocknen stark abgeplattete Vesikel vorliegen, deren Dimensionen senkrecht zur Schichtrichtung groß sind gegenüber ihrer Ausdehnung in Richtung der Stapelachse, so ist diese Korrektur für ein System unorientierter Vesikel dann durch den sog. Lamellenfaktor $K = 1/(2\mathfrak{V})^2$ gegeben. Bei Vorliegen einer Vorzugsorientierung reduziert sich dieser Faktor auf $K' = 1/(2\mathfrak{V})$. Einen Hinweis darauf, daß diese Korrektur richtig ist, gibt die Tatsache, daß nach Durchmultiplizieren der Streukurve mit dem Faktor $2\mathfrak{V}$ die Intensität im Kleinstwinkelbereich auf einen konstanten Wert abfällt. Abbildung 12 zeigt die bereits korrigierte Intensitätskurve.

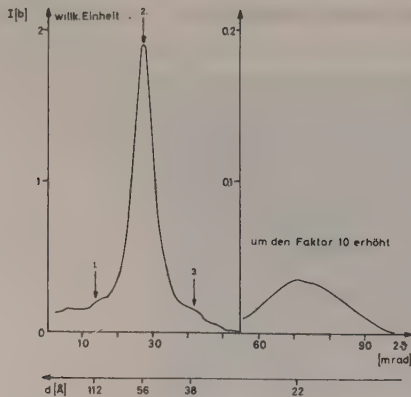


Abb.12 Meridionale Streuintensitätskurve angetrockneter Thylakoide von *Rhodospseudomonas spheroides*

Weitaus am stärksten ist der bei $56 Å$ liegende Reflex. Jedoch sind auch die bei $112 Å (=2 \cdot 56)$ und $38 Å (=2/3 \cdot 56)$ liegenden Interferenzen mit dem Auge auf dem Film noch deutlich erkennbar. Das gilt jedoch nicht für das schwache bei $224 Å$ auftretende Maximum, das experimentell nicht gesichert ist.

Durch Fourierinverstransformation dieser meridionalen Streuintensitätskurve wird die Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ in Schichtrichtung erhalten, die wie erwähnt der Pattersonfunktion eines Kristalles entspricht.

Da $I(b)$ centrosymmetrisch ist, kann $Q(x)$ gemäß

$$(35) \quad Q(x) = 2 \int_0^{b_{\max}} I(b) \cos 2\pi b x \, db$$

numerisch unter Benutzung der Simpson'schen Regel berechnet werden. Das Resultat ist in Abbildung 13 grafisch dargestellt.

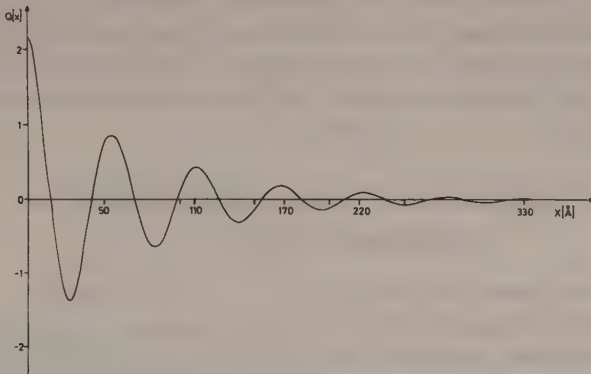


Abb.13 Die Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ angetrockneter Thylakoide in Schichtrichtung

Die Auswertung der meridionalen Streuintensitätskurve wird nun auf zwei verschiedenen voneinander unabhängigen Wegen vorgenommen.

In Auswertung A wird eine Patterson-Analyse der oben wiedergegebenen Q -Funktion durchgeführt. Es wird dabei durch Separation aus der Q -Funktion die Q_0 -Funktion bestimmt und daraus die Faltungswurzel $\rho_0(x)$ gezogen.

Die einzige Voraussetzung hierbei ist, daß das Schichtgitter aus symmetrischen Bausteinen der Schichtperiode d zusammengesetzt ist.

Aus bestimmten Gründen, die in späteren Diskussion näher dargelegt werden und mit möglichen Veränderungen der Membranen während des Trocknungsvorganges zusammenhängen, wird der naheliegende Schluß, dieser Schichtperiode eine Doppelmembran zuzuordnen, vorerst nicht gezogen. Gitterstörungen werden in Auswertung A nicht in Betracht gezogen, vielmehr wird die Streukurve als Überlagerung der Streuung von Einer-, Zweier- und Dreier-Gruppen solcher Bausteine angesehen, die im Präparat statistisch verteilt seien und nicht miteinander in Interferenz treten.

In Auswertung B dagegen wird gerade Gitterstörungen Rechnung getragen, indem die Streukurve einem parakristallin gestörten Schichtgitter von Membranen zugeordnet wird. Die Voraussetzungen sind hier, daß auf jede Membran eine dazu inversionssymmetrische Membran in der Schichtung folgt und daß die einzelne Membran frei von inneren Abstandsschwankungen ist.

A Patterson-Analyse der Q-Funktion und Bildung der

Faltungswurzel $\varphi_0(x)$

Es wird nun gemäß Kapitel II(1.a - 1.c) die gesamte Abstandsverteilungsfunktion $Q(x)$ in einzelne Q_{on} -Funktionen zerlegt, die den Abstandsverteilungen zu nullten, ersten und zweiten Nachbarn entsprechen. Dabei ist zunächst die Periode des symmetrischen Bausteins festzulegen.

Das Faltungsquadrat $Q_0(x)$ hat allgemein die Eigenschaft, daß sein absolutes Maximum im Ursprung bei $x = 0$ liegt. Da weiterhin die höchste, einwandfrei beobachtete Interferenz im Streudiagramm bei einem Braggwert von $112 \text{ \AA}$ liegt, ist somit das zweite Maximum von $Q(x)$, entsprechend einer Periodenlänge von $d = 112 \text{ \AA}$, auszuwählen.

Gemäß der Periodenlänge von $112 \text{ \AA}$ ist die Q-Funktion (Abb.13) dann zerlegt worden.

Es wurde also zunächst bei $x = 224 \text{ \AA}$ die Q-Funktion des Intervalls $(224 - 336 \text{ \AA})$ um eine zur Ordinatenachse parallele Gerade gespiegelt und von der Q-Funktion im Intervall $(112 - 224 \text{ \AA})$ abgezogen. Anschließend wurde die verbleibende Q-

Funktion des Intervalls ($112 \text{ \AA} - 224 \text{ \AA}$) an der Stelle $x = 112 \text{ \AA}$ wiederum nach innen gespiegelt und von der Q -Funktion im Intervall ($0 - 112 \text{ \AA}$) abgezogen. Diese Separationsmethode ist von Kreutz [2] entwickelt worden. Das Ziel dieser Prozedur ist die Q_0 -Funktion im Intervall ($0 - 112 \text{ \AA}$), die den Abständen innerhalb eines Bausteins entspricht. Die auf diese Weise separierten Q_{on} -Funktionen sind in Abbildung 14 wiedergegeben.

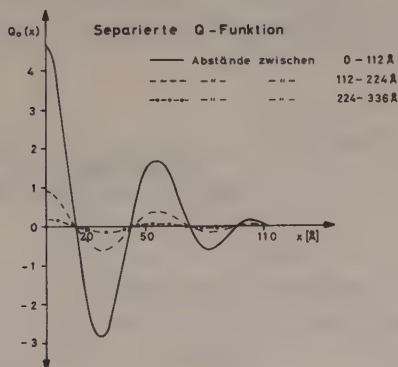


Abb. 14 Aufteilung der Q -Funktion in drei Q_0 -Funktionen, die symmetrisch um die Punkte $x = 0$ (—), $x = 112 \text{ \AA}$ (---) und $x = 224 \text{ \AA}$ liegen

Die Gewichte der verschiedenen Q_0 -Funktionen lassen sich interpretieren als Volumanteile der Einer-, Zweier- bzw. Dreiergruppen von symmetrischen Bausteinen, die zur Streuung beitragen. Aus dem Verhältnis der Maxima der Q_0 -Funktionen von 1 : 5 : 25 errechnet man

$$3 \cdot 1 = 3 = 12 \% \text{ Dreiergruppen}$$

$$2 \cdot (5 - 2) = 6 = 24 \% \text{ Zweiergruppen}$$

$$1 \cdot (25 - 3 - 6) = 16 = 64 \% \text{ Einzelbausteine}$$

Aus der separierten Q_0 -Funktion von $0 - 112 \text{ \AA}$ wird nun mit Hilfe des Fourier-analytischen Entfaltungsverfahrens (Kapitel II 1.c) die zugehörige Faltungswurzel $\varphi_0(x)$ gezogen. Das Ergebnis zeigt Abbildung 15.

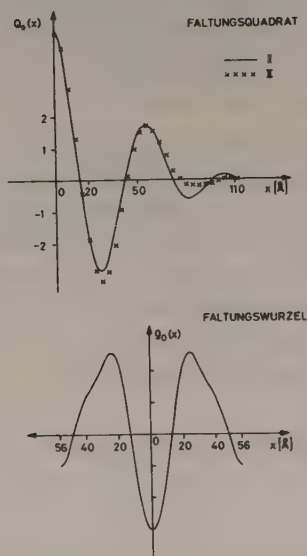


Abb.15 Separierte Q_0 -Funktion zur Bausteingröße $112 \text{ \AA}$ (oben) sowie resultierende Faltungswurzel $\varphi_0(x)$ (unten). Kurve II (oben) stellt das zurückgerechnete Faltungsquadrat der Lösung $\varphi_0(x)$ dar.

Die Faltungswurzel $\varphi_0(x)$ repräsentiert die Elektronendichteverteilung innerhalb eines symmetrischen Bausteins in Richtung der Stapelachse. Wie oben schon erwähnt, ist auch die um die Abszisse gespiegelte Lösung $-\varphi_0(x)$ möglich. Die Festlegung des Vorzeichens wird erst im Anschluß an Auswertung B vorgenommen.

Das zurückgerechnete Faltungsquadrat zeigt im äußeren Teil systematische Abweichungen von der experimentellen Q_0 -Funktion.

Diese Abweichungen können nicht auf einen Mangel der Entfaltungsmethode zurückgeführt werden, denn wie in Kapitel 1.c) demonstriert wurde, ist diese Methode wesentlich genauer. Der Grund kann entweder darin gesehen werden, daß die experimentelle Q_0 -Funktion so ungenau ist oder aber, daß der zugrunde gelegte Baustein von $112 \text{ \AA}$ selbst nicht symmetrisch ist.

Weit wahrscheinlicher aber ist, daß innerhalb dieses Bausteins innere Abstandsschwankungen auftreten, die dann natürlich zu systematischen Differenzen führen müssen. Derartige Abstandsschwankungen können in der nun folgenden Auswertung B erfaßt werden.

B Fouriersynthese der Streuintensität durch ein parakristallines Schichtgitter

In Kapitel II.2. wurde nach der Theorie des Parakristalls von Hosemann [3], [4], [5] die Streuintensität eines parakristallinen Schichtgitters von nichtsymmetrischen Bausteinen bei regelmäßiger Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung berechnet.

Es wird nun versucht, unter Zugrundelegung einer minimalen Anzahl von Annahmen mittels der dort erhaltenen Streuformel die experimentelle meridionale Streukurve zu synthetisieren. Diese Annahmen sind:

1. Auf jede Membran folgt eine dazu inversionssymmetrische Membran in der Schichtung
2. Es wird die gleiche Abstandsstatistik $H_1(x)$ für die verschiedenen Grenzbereiche G und G' (Abb.6) angenommen.
3. Ein Kristallitgrößeneffekt wird nicht in Rechnung gestellt, sondern der Parakristall wird als unendlich ausgedehnt angesehen.
4. Die Einzelmembran ist frei von inneren Abstandsschwankungen.

Bei der Diskussion des Ergebnisses werden wir auf diese Annahmen zurückkommen.

Zu 2. sei ergänzend bemerkt, daß die mathematische Behandlung unterschiedlicher, auch komplizierterer asymmetrischer Abstandsstatistiken keine Schwierigkeiten bereitet. Es müssen dabei jedoch zusätzliche Parameter eingeführt werden, zu deren Bestimmung auf der anderen Seite, der experimentellen Streukurve, nicht genügend Details zur Verfügung stehen.

Die Synthese wird nun folgendermaßen vorgenommen:

Der Vergleich der Reflexfolgen der beiden parakristallinen Gitterfaktoren $Z(b)$ und $Z'(b)$ von $1/b$ -Werten bei ca. $2\bar{a}$, $\bar{a}$ und $2/3 \bar{a}$ und der Folge der Maxima der Intensitätsfunktion bei Braggwerten von $2 \cdot 56 \text{ \AA}$, $56 \text{ \AA}$ und $2/3 \cdot 56 \text{ \AA}$ führt zu folgender Zuordnung:

Der dominierende $56 \text{ \AA}$ -Reflex der Streukurve wird hervorgerufen vom parakristallinen Gitterfaktor $Z(b)$ und damit von dem symmetrischen Anteil der Dichteverteilung des nicht-symmetrischen Bausteins. Die beiden anderen, schwachen Reflexe dagegen entsprechen den Maxima des parakristallinen Gitterfaktors $Z'(b)$ und sind durch den antisymmetrischen Anteil der Struktur des Bausteins bedingt.

Der genaue Wert für den mittleren Abstand $\bar{a}$ der Bausteine dieses parakristallinen Gitters ergibt sich zu $\bar{a} = 54 \text{ \AA}$. Die geringe Verschiebung des Maximums der Streukurve zu einem Braggwert von $56 \text{ \AA}$ ist durch den exponentiellen Abfall von $|F|$, dem Betrag der Fouriertransformierten der Abstandsstatistik $H_1(x)$ bedingt. In einem idealen Gitter ohne Abstandsschwankungen läge dieses Hauptmaximum bei einem Braggwert von $54 \text{ \AA}$.

Die nächsten Schritte sind:

- a) Aus der Breite des dominierenden Maximums bei dem Braggwert von $56 \text{ \AA}$ wird der g -Wert, das mittlere Schwankungsquadrat der Abstandsstatistik $H_1(x)$ entnommen, da der Strukturfaktor eines ca. $50 \text{ \AA}$ großen Bausteins eine nur langsam veränderliche Funktion ist. Es ergab sich $g=0,2$.
- b) Zur Bestimmung des symmetrischen Anteils der Struktur dient das Intensitätsverhältnis der Maxima bei $1/b = 56 \text{ \AA}$

und $1/b = 22 \text{ \AA}$, sowie die Lage dieses letzteren schwachen Maximums und die Forderung einer Nullstelle des Struktur-faktors bei einem $1/b$ -Wert von ca. $28 \text{ \AA}$.

c) Durch die Höhen der beiden schwachen Maxima bei $1/b = 112 \text{ \AA}$ sowie $1/b = 38 \text{ \AA}$, ihrem Verhältnis zueinander und wiederum durch die Forderung einer Nullstelle auch des Imaginärteils der Strukturamplitude bei ca. $1/b = 28 \text{ \AA}$ wird anschließend der antisymmetrische Anteil der Struktur dieses parakristallinen Bausteins bestimmt.

Der symmetrische als auch der antisymmetrische Anteil des Strukturbausteins wurden dabei durch eine Summe von Gaußfunktionen $A_1 \exp(-c_1(x-a_1)^2)$ dargestellt.

Die Parameter wurden bestimmt zu:

	A	c	a
Symmetr. Anteil :	1	0,00677	$\pm 5,4 \text{ \AA}$
	1	0,00677	$\pm 8,64 \text{ \AA}$
	-0,2	0,00677	$\pm 2,7 \text{ \AA}$
Antisym. Anteil :	$\pm 0,75$	0,00521	$\pm 16,2 \text{ \AA}$
	$\mp 0,62$	0,00521	$\pm 19,4 \text{ \AA}$

Tabelle 2 Parameter des nichtsymmetrischen Bausteins
des parakristallinen Gitters

Das Resultat der Rechnung, die Elektronendichteverteilung $\rho(x)$ dieses nichtsymmetrischen Bausteins des parakristallinen Gitters in Schichtrichtung, ist in Abbildung 16 dargestellt.

Die daraus gemäß Gleichung (32) errechnete Streuintensität ist in Abbildung 17 mit der experimentellen meridionalen Streuintensitätskurve angetrockneter Thylakoide verglichen worden.

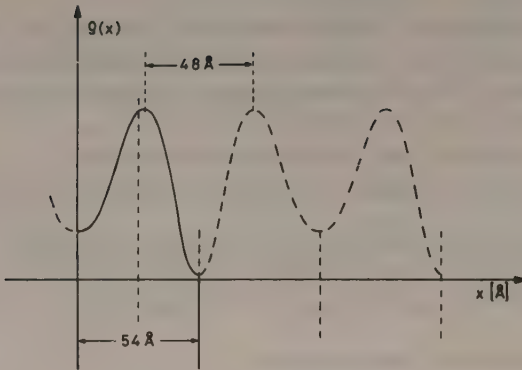


Abb.16 Elektronendichteverteilung $q(x)$ in Schichtrichtung innerhalb einer Bausteinperiode des parakristallinen Schichtgitters. Die Fortsetzung der Dichteverteilung des Schichtgitters ist gestrichelt eingezeichnet.

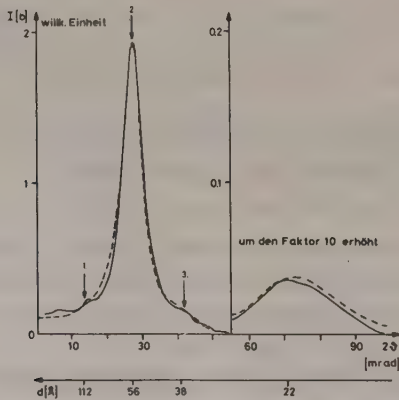


Abb.17 Vergleich der Streuintensität des obigen parakristallinen Schichtgitters mit der experimentellen meridionalen Streukurve angetrockneter Thylakoide von Rhodospseudomonas spheroides

Die Elektronendichteverteilung $\varphi(x)$ der Abbildung 16 ist aufzufassen als die mittlere, auf die x-Achse (Stapelachse) projizierte Dichteverteilung der aufeinandergeschichteten Thylakoide.

In dieser Synthese wurde absichtlich von positiven, absoluten Elektronendichten ausgegangen. Dadurch entfällt die Möglichkeit des Vorzeichenumklappens, die bei relativen Dichten gegenüber einer mittleren Dichte stets in Betracht gezogen werden muß. Die Erklärung für diese zweifellos überraschende und elegante Vorzeichenbestimmung liegt darin, daß einzig als plausibel anzusehen ist, daß die Dichte in diesen parakristallinen Bausteinen höher ist als in den Grenzbereichen zwischen ihnen, in denen es zu Abstandsschwankungen kommt. Wie später gezeigt wird, ist hiermit auch das Vorzeichen der Faltungswurzel $\varphi_0(x)$ der vorangegangenen Auswertung A bestimmbar.

Weiterhin zeigt Abb. 16, daß die Asymmetrie der Bausteine des parakristallinen Gitters deutlich ausgeprägt ist. Dies wird dokumentiert einmal durch den Unterschied der Minima und zum anderen durch den unterschiedlichen Abstand der Maxima (48 Å und 60 Å).

Die Übereinstimmung der berechneten Streuintensitätskurve des parakristallinen Schichtgitters mit der experimentellen Streukurve kann unter Berücksichtigung der experimentellen Fehlergrenzen als gut angesehen werden. Sämtliche exp. sicher beobachtbaren Maxima werden durch die berechnete Streukurve annähernd quantitativ wiedergegeben. Eine weitere Verbesserung der Anpassung erscheint bei der gegebenen Meßgenauigkeit augenblicklich nicht sinnvoll.

Die einzige verbleibende Differenz liegt in dem schwachen, experimentell jedoch nicht gesicherten Maximum bei einem Braggwert von ca. 220 Å.

Dieses kann interpretiert werden als

- a) Auswerteartefakt, bedingt zum Beispiel durch den Korrekturfaktor b, mit dem die experimentelle Intensitätskurve multipliziert wurde

b) Hinweis auf die Möglichkeit eines Unterschieds zwischen den Bausteinen des parakristallinen Gitters. Folgen auf je zwei Bausteine B_1 (Bild und Spiegelbild) je zwei etwas davon unterschiedliche Bausteine B_2 (ebenfalls Bild und Spiegelbild), so ist an dieser Stelle im Streudiagramm ein in seiner Höhe von der Differenz der Bausteine abhängiges Maximum zu erwarten.

Es kann jedoch erst nach einer entsprechend verfeinerten Meßmethodik eine derartige Differenz der Bausteine des parakristallinen Gitters als zwingend postuliert werden.

Bevor diese auf zwei verschiedenen Wegen erhaltenen Dichteverteilungen weiter interpretiert werden, sollen zusätzliche Informationen aus der Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide nach Extraktion der Lipide gewonnen werden.

Lipidextraktionsversuche sind im Zusammenhang mit Strukturuntersuchungen von Membranen ein häufig gebrauchtes Hilfsmittel, die Anordnung von Proteinen und Lipiden in der Membran näher zu bestimmen.

Fleischer et.al. [15] konnten in ihren elektronenmikroskopischen Untersuchungen von Schnittpräparaten von Mitochondrienmembranen zeigen, daß die fast vollständige Extraktion der Lipide aus den Membranen keinen wesentlichen Effekt auf die beobachtete Feinstruktur, -das typische Bild einer Elementarmembran-, hatte.

In der Folgezeit sind ähnliche Beobachtungen von anderen Autoren an einer Reihe weiterer Membranen gemacht worden.

3. Die meridionale Röntgenkleinwinkelstreuung
angetrockneter Thylakoide nach Extraktion der
Lipide mit wasserfreiem Aceton

Aus den angetrockneten Thylakoiden, die in Form von dünnen Plättchen vorliegen, können die Lipide größtenteils durch wasserfreies Aceton extrahiert werden. Der Extraktionsgrad beträgt dabei nach Fleischer et al. [15] ca. 80 - 90 %. Es werden dadurch folgende Informationen erhalten:

1. Die Form der Plättchen bleibt erhalten. Es verringert sich lediglich ihre makroskopische Dicke (Gesamtdicke des Schichtsystems) auf ungefähr den halben Wert (Menke [14]).
2. Auf dem meridionalen Streudiagramm bleibt der dominierende parakristalline Reflex bei einem Braggwert von $56 \text{ \AA}$ erhalten. Er ist jedoch stark verbreitert und geringfügig nach kleineren b -Werten zu verschoben, wie es einer Änderung des g -Wertes der Abstandsstatistik $H_1(x)$ von $g = 20\%$ auf $g = 24\%$ entspricht. Dieser g -Wert ist aus der neuen Halbwertsbreite des Maximums entnommen worden.

Aus diesen Informationen können folgende Schlüsse gezogen werden:

- A. Der parakristalline Reflex bei einem Braggwert von $56 \text{ \AA}$ wird im wesentlichen von Proteinschichten hervorgerufen. Ein gewisser Anteil nicht extrahierter Lipide kann dabei nicht ausgeschlossen werden.
- B. Durch die Extraktion der Lipide wird dieses Proteinschichtgitter stärker gestört.
- C. Das Präparat ist vor der Extraktion nicht als statistisch homogen anzusehen.

Zu Punkt B. ist zu bemerken, daß die Reflexverbreiterung auch durch eine Kristallitgrößenschrumpfung bedingt sein könnte. Diese Schrumpfung wäre so zu erklären, daß vor der Extraktion Lipide und Proteine in nebeneinanderliegenden Schichten vorgelegen hätten.

Es ist jedoch sehr unwahrscheinlich, daß ein Schichtgitter aus unterschiedlichen Bausteinen mit einem mittleren Bausteinabstand $\bar{a}$ nach Extraktion einer Sorte dieser Bausteine in ein Schichtgitter mit dem gleichen mittleren Abstand $\bar{a}$ übergeht. Dies führte sonst zu der Konsequenz, daß Lipidschicht und Proteinschicht innerhalb des experimentellen Auflösungsvermögens ein nahezu identisches Dichteprofil in Schichtrichtung haben müßten.

Die beobachtete Schrumpfung ist daher so zu erklären, daß vor der Extraktion in dem Präparat Bereiche des parakristallinen Schichtgitters mit einer endlichen Kristallitgröße d_k vorliegen, die selber nicht schrumpfen, während andere amorphe Bereiche (Hohlräume oder mehr oder minder regellos verteilte Lipidzonen) für die festgestellte Verringerung der Dicke des Präparats die Verantwortung tragen.

Von besonderem Interesse ist nun der Wert d_k dieser mittleren Kristallitgröße, der der Ausdehnung des kohärent streuenden Bereichs dieses parakristallinen Gitters entspricht. Nach Vainshtein [21] hängt die Ausdehnung dieses "Wechselwirkungsbereichs" mit dem mittleren Bausteinabstand $\bar{a}$ und dem g -Wert des Schichtgitters auf folgende Weise zusammen:

$$(36) \quad x_M = M\bar{a} \quad \text{mit} \quad M = \frac{1}{(2,5g)^2} = 0,16/g^2$$

Für einen Wert von $\bar{a} = 54 \text{ \AA}$ und $g = 0,2$ ergibt sich somit

$$d_k = 4 \cdot 54 = 216 \text{ \AA}$$

Sieht man dagegen den Kristallitgrößeneffekt (Gestaltfaktor) selbst als verantwortlich für die Breite des bei $56 \text{ \AA}$ liegenden Reflexes an, so ergibt sich aus der reziproken Halbwertsbreite dieses Maximums ein ganz ähnliches Resultat:

$$d'_k = \frac{1}{B_{1/2}(56)} = 3,7 \cdot 56 = 207 \text{ \AA}$$

IV. Diskussion der Ergebnisse

Die Analyse der isotropen Röntgenkleinwinkelstreuung von isolierten Thylakoiden in wässriger Suspension ergab, daß diese Thylakoide als ein System von Hohlkugeln fast einheitlicher Größe aufzufassen sind, mit einer mittleren Dichte in der Kugelschale, die sich positiv von der des umgebenden Wassers unterscheidet.

Der mittlere Radius r_m dieser Hohlkugeln beträgt $300 \text{ \AA}$, für die Dicke der Kugelschale wurde ein Wert von $d = 70 \text{ \AA}$ gefunden.

Dieser Wert kann nur dann der Dicke der Membran zugeordnet werden, so fern man voraussetzt, daß die Membran in ihrer gesamten Ausdehnung eine höhere Dichte als die des Wassers besitzt. Anderenfalls ist die Dicke der Membran größer.

Aussagen über die Feinstruktur der Membran können auf Grund dieser Messungen erst gemacht werden, wenn geklärt ist, ob die im Streudiagramm auftretende schwache Interferenz bei ca. $50 \text{ \AA}$ einem bevorzugten Abstand in radialer Richtung oder aber einem Abstand in der dazu senkrechten Richtung, also innerhalb der Membranfläche, entspricht.

Die Tatsache allerdings, daß nach dem Antrocknen der Thylakoide der dominante Reflex bei $56 \text{ \AA}$ auf dem Meridian orientiert ist, spricht mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit dafür, daß dieser bevorzugte Abstand in radialer Richtung liegt. Nur der Grund, daß bei dem Antrocknen der Membranen Veränderungen ihrer Struktur nicht ausgeschlossen werden können, hindert uns daran, dieser Zuordnung völlig sicher zu sein. Die Ursache für mögliche Veränderungen der Membranstruktur beim Antrocknen ist in den hydrophoben Bindungen zwischen Lipiden und Proteinen in der Membran zu sehen.

Die Bedeutung von hydrophoben Bindungen für die Assoziation von Proteinen und Lipiden in Membranen ist von zahlreichen Autoren nachgewiesen worden. Speziell für die Chloroplastenmembran haben Ji und Benson [22] diesen Nachweis geführt. Auch Menke und Weichan [8] führen die Labilität der Lipide von Thylakoiden in ihren elektronenmikroskopischen Präparationen auf das Nachlassen von hydrophoben Bindungen zurück.

Durch den Wasserverlust beim Antrocknen können die durch hydrophobe Bindungen zusammengehaltenen Membranbestandteile instabil werden und gegenseitige Lageveränderungen dieser Membranteile sind zu erwarten.

Da die chemischen Vorgänge beim Antrocknen der Membranen noch nicht genügend erforscht sind, kann man über das Ausmaß der möglicherweise dadurch bedingten Strukturveränderungen der Membranen geteilter Meinung sein. Daher sind generell Einwände gegen die folgende Interpretation in den Punkten, die von möglichen Membranveränderungen betroffen werden, nicht auszuschließen.

Es soll nun gezeigt werden, welche Aussagen über die Membranstruktur trotz dieser Vorbehalte gemacht werden können.

In Abbildung 18 sind die Resultate der beiden verschiedenen Auswertungen A und B der meridionalen Streuung angetrockneter Thylakoide in einem Diagramm miteinander verglichen worden.

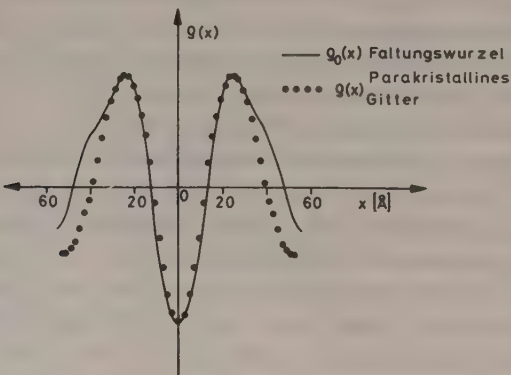


Abb.18

Vergleich der beiden nach verschiedenen Auswertemethoden ermittelten Elektronendichteverteilungen in Schichtrichtung angetrockneter Thylakoide

(— Pattersonanalyse und Ziehung der Faltungswurzel $q_0(x)$
 o o o Fouriersynthese der Streuintensität eines parakristallinen Schichtgitters nichtsymmetrischer Bausteine bei regelmäßiger Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung)

In Abbildung 18 wurden die beiden von einem Skalenfaktor unabhängigen Funktionen auf die gleiche Differenz zwischen absolutem Maximum und Minimum normiert und der Nullpunkt des parakristallinen Schichtgitters wurde in das tiefere der beiden verschiedenen Minima gelegt (vgl. Abb. 16).

Die Abweichungen der beiden Dichteverteilungen im Außenteil der Kurve voneinander waren zu erwarten, da in Auswertung A (Ziehung der Faltungswurzel) keine Gitterstörungen berücksichtigt wurden.

Die beiden verschiedenen Auswertemethoden haben ihre speziellen Vorzüge und ergänzen (beziehungsweise korrigieren) einander.

Durch Auswertung B kann (wie oben schon erwähnt) das Vorzeichen der Dichte $\rho(x)$ festgelegt werden, durch das Resultat von Auswertung A ist eine der beiden verschiedenen Lagekombinationen der Bausteine des parakristallinen Gitters ausgezeichnet. Die Deutung dafür wird weiter unten gegeben.

Die Dichteverteilung der Abb. 18 ist die eigentliche röntgenografische Information aus der Streukurve angetrockneter Thylakoide.

Wie können nun die Dichtepeaks dieser Verteilung interpretiert werden?

1. Die Dichtepeaks entsprechen Protein- (Lipoprotein-)schichten.

Diese Aussage basiert darauf, daß nach Extraktion der Hauptmenge der Lipide der Reflex bei $56 \text{ \AA}$ erhalten bleibt, wenn auch stark verbreitert. In welchem Maße vor der Extraktion Lipide in diese Schichten integriert sein können, kann nicht festgestellt werden (daher der Zusatz "Lipoprotein-"). Die Gittermaße, das Gerüst gewissermaßen, sind jedoch durch das Protein vorgegeben.

Die Möglichkeit, daß reine Lipidpeaks auftreten, ist nicht völlig auszuschließen. Sie ist jedoch, wie im vorigen Kapitel (III.3) näher ausgeführt wurde, als sehr unwahrscheinlich anzusehen.

Die zweite Aussage kann sich nur auf die Frage beziehen: Wie ist die Zuordnung dieser Protein- (Lipoprotein-)schichten

zu den Membranen?

Ist die Membranschichtperiode nach Antrocknung $54 \text{ \AA}$ und unter welchen Bedingungen ist eine Membranschichtperiode von $108 \text{ \AA}$ nicht auszuschließen?

Die Klärung dieses Sachverhalts ist von großer Bedeutung und es sollen daher beide Möglichkeiten diskutiert werden. Dahinter steht die Frage, ob auf Grund der vorliegenden Informationen aus den Röntgenstreu曲ven zwischen diesen beiden Möglichkeiten unterschieden werden kann.

Diskutieren wir daher als erstes die Möglichkeit, daß die einfache Membranschichtperiode nach Antrocknung $54 \text{ \AA}$ ist. Diese Aussage ist eine logische Schlußfolgerung von Auswertung B, der Fouriersynthese der Streuintensität eines parakristallinen Schichtgitters. Dort war die Annahme gemacht worden, daß auf je eine Membran ihr Spiegelbild in der Schichtung folgt und daß zwischen den einzelnen Membranen Abstandsschwankungen auftreten.

Aus der Tatsache, daß die Streukurvensynthese möglich war, kann man berechtigt folgern, daß einem Baustein des parakristallinen Gitters eine Membran zuzuordnen ist, allerdings unter der Bedingung, daß die Annahmen für diese Rechnung auch gültig sind.

Sehr wesentlich für diese Auswertung war aber die Gültigkeit der Annahme, daß die Membran selbst keine inneren Abstandsschwankungen aufweise, wie es etwa bei einer Doppelschicht variabler Dicke der Fall wäre.

Anders ausgedrückt, der Ansatz für Auswertung B wäre überhaupt nicht abzuändern, wenn man unter zwei solchen nicht-symmetrischen Bausteinen, die spiegelsymmetrisch zueinander liegen, zwei Schichten einer Membran versteht, die dann allerdings innere Abstandsschwankungen aufweisen und -innerhalb des experimentellen Auflösungsvermögens - symmetrischen Bau besitzen muß.

Vom Ansatz ist also zwischen diesen beiden Möglichkeiten nicht zu unterscheiden.

Es gibt jedoch noch eine Reihe weiterer röntgenografischer Informationen außer der Dichteverteilung von Abb. 18. Diese zusätzlichen Informationen könnten - im Prinzip jedenfalls -

dazu geeignet sein, Unterschiede zwischen den beiden Interpretationsmöglichkeiten aufzudecken, die es dem Biologen dann erleichtern, eine der beiden Lösungen auszuschließen. Solche weiteren Informationen sind:

- A. Die Kohärenzlänge des Schichtgitters angetrockneter Thylakoide ist ca. 200 Å.
- B. Nach Extraktion der Hauptmenge der Lipide mit wasserfreiem Aceton bleibt der 56 Å-Reflex, zwar stark verbreitert, erhalten.
- C. Bei der Extraktion sinkt die Gesamtschichtdicke auf ca. 50 % herab.

Nach Kreutz [26] sind diese Befunde unter Annahme einer einfachen Membranschichtperiode von 54 Å im angetrockneten Zustand so zu interpretieren, daß sich die Lipide während des Antrocknens größtenteils von den Membranen abgelöst haben und sich in Form von Vesikeln so verteilt haben, daß nur noch die "Restmembranen" das Schichtgitter bilden. Es müßten dann bevorzugt vier, bei Störungen mindestens vier, solcher "Restmembranen" einen kohärenten Streubereich von ca. 200 Å aufbauen.

Ziehen wir nun die zweite Möglichkeit in Betracht, daß die Membran im angetrockneten Zustand als Doppelschicht innere Abstandsschwankungen aufweise und eine Schichtperiode von $d = 108 \text{ Å}$ habe.

Unter dieser Annahme können die Befunde A bis C folgendermaßen interpretiert werden:

- A. Je zwei Membranen liegen nebeneinander und bilden einen Kohärenzbereich von ca. 200 Å in Schichtrichtung.

Es ist plausibel, daß diese beiden Membranen mit ihren Außenflächen aneinanderliegen, da durch die Deformation der Thylakoide während des Trocknens Spannungen auftreten können.

- B. Dieses Membranpaar ist in seiner Struktur nur gering von der Lipidextraktion abhängig, daher bleibt der 56 Å-Reflex erhalten. Die Reflexverbreiterung kann durch zusätzliche Gitterstörungen, bedingt durch die Extraktion, erklärt werden.

- C. Der Innenraum der Thylakoide steht bei der Anlagerung je zweier Membranen mit ihren Außenflächen gegeneinander für die Schrumpfung zur Verfügung (bei der umgekehrten Anlagerung wäre es der Außenraum).

Außerdem können nun folgende Punkte erklärt werden:

- D. Wenn je zwei Membranen nebeneinander liegen, liefert die Ziehung der Faltungswurzel aus der separierten Q_0 -Funktion stets das Dichteprofil einer Membran nach Antrocknung.

Der Ansatz des unendlich ausgedehnten Parakristalls für Auswertung B konnte diese Information nicht liefern, obwohl auch hier festzustellen war (Gleichung 36), daß der Wirkungsbereich dieses parakristallinen Gitters nur ca. $200 \text{ \AA}$ groß war. Jetzt ist jedoch klar, weshalb die Faltungswurzel $Q_0(x)$ gerade eine der beiden möglichen Kombinationen der beiden Bausteine des parakristallinen Gitters auszeichnet.

- E. Das schwache Maximum bei ca. $50 \text{ \AA}$ der Streukurve isolierter Thylakoide in wässriger Suspension kann zwanglos als Folge eines bevorzugten Intramembranabstands in radialer Richtung interpretiert werden.

Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß die verschiedenen Trocknungsstadien zweier Membranen, der inneren und der äußeren Mitochondrienmembran, von Thompson, Coleman und Finean [23] röntgenografisch verfolgt worden sind.

Im Anfangszustand der Trocknung wird von den Autoren bei beiden Membranen folgende Reflexfolge beobachtet: $118 \text{ \AA}$, $59 \text{ \AA}$ und $39 \text{ \AA}$. Über einen sog. "Zwischenzustand" gehen beide Membranen in ein "Endstadium" der Trocknung über, in welchem die höchste beobachtete Röntgenperiode, die als Einzelmembranschichtperiode von den Autoren angenommen wird, auf ca. $90 \text{ \AA}$ gesunken ist.

Wichtiger jedoch ist, daß sich während der Trocknung praktisch sämtliche Interferenzen verschieben, was auch hier auf innere Abstandsschwankungen der Membranen schließen läßt.

Auch Kreutz [2] postuliert für die Bakterienthylakoidmembran eine doppelschichtige Proteinlamelle und verweist dabei auf elektronenmikroskopische Aufnahmen mit Hilfe der Gefrierätztechnik von Giesbrecht und Drews [9].

Auf Grund der vorliegenden Untersuchungen ist nun ein deutlicher Hinweis darauf erhalten worden, daß diese Doppelschicht nach Antrocknung innere Abstandsschwankungen aufweist, die durch eine parakristalline Abstandsstatistik beschrieben werden können.

Über den Grad einer möglichen Asymmetrie dieser Thylakoidmembran, im angetrockneten Zustand wie im nativen Zustand, kann im Augenblick keine verbindliche Aussage gemacht werden. Aus der Tatsache jedoch, daß bei ca. $220 \text{ \AA}$ keine deutliche, experimentell gesicherte Interferenz zu beobachten war, kann gefolgert werden, daß eine mögliche Asymmetrie nicht groß sein könne.

Abschließend sei erwähnt, daß sämtliche Befunde bei Annahme einer doppelschichtigen Membran (Schichtperiode $108 \text{ \AA}$ im angetrockneten Zustand) zwanglos durch das Proteinkristallmodell einer biologischen Membran von Vanderkooi und D.E. Green [24] erklärt werden können.

V. Zusammenfassung

Es ist ein neues Verfahren zur Ziehung der Faltungswurzel aus der Q_0 -Funktion eindimensionaler symmetrischer Strukturen bei Pattersonanalysen entwickelt worden.

Der charakteristische Vorzug dieses Verfahrens ist, daß zur Berechnung der Dichtewerte sämtliche Werte der Q_0 -Funktion simultan verwendet werden im Gegensatz zu einer Initialisierung der Entfaltung durch die besonders unsicheren Werte der Q_0 -Funktion im Außenteil der Kurve. Dieses Verfahren ist programmiert und erfolgreich an Modellfunktionen getestet worden.

Als bei der praktischen Anwendung dieses Verfahrens auf die meridionale Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide von *Rhodospseudomonas spheroides* systematische Abweichungen auftraten, die außerhalb der Genauigkeit dieser Methode lagen, mußten Störungen dieses Schichtgitters als wahrscheinlichste Ursache dafür angesehen werden.

Um den Einfluß von Gitterstörungen auf die Streufunktion verfolgen zu können, wurde nach der Theorie des Parakristalls von Hosemann [2] die Streuintensitätsfunktion eines parakristallin gestörten Schichtgitters nichtsymmetrischer Bausteine bei regelmäßiger Folge von Bild und Spiegelbild in der Schichtung berechnet.

Die Analyse der isotropen Röntgenkleinwinkelstreuung isolierter Thylakoide in wässriger Suspension ergab für den mittleren Radius dieser hohlkugelartigen Vesikel einen Wert von $r_m = (300 \pm 30) \text{ \AA}$ und für die Dicke der Schale (Membran) einen mittleren Wert von $d = 70 \text{ \AA}$, wobei für diesen Wert auf Grund von möglichen systematischen Fehleinflüssen größere Abweichungen nicht ausgeschlossen werden können.

Die Auswertung der meridionalen Röntgenkleinwinkelstreuung angetrockneter Thylakoide wurde auf zwei verschiedenen Wegen, der Pattersonanalyse der Q -Funktion und der Fourier-synthese der Streuintensität, vorgenommen.

Die Analyse ergab, daß die meridionale RKWS angetrockneter Thylakoide hervorgerufen wird durch Lipoproteinschichten mit einem mittleren Abstand von $54 \text{ \AA}$ voneinander.

Die Extraktion des Hauptanteils der Lipide (ca. 80-90%) läßt diesen Abstand weitgehend unbeeinflusst. Das unterstreicht die Rolle des Proteins als Schichtgerüst. Über den prozentualen Anteil der Lipide in diesen Schichten kann keine Aussage gemacht werden.

Die Antwort auf die Frage, wieviele solcher Schichten einer Membranperiode im angetrockneten Zustand entsprechen, ist abhängig von der Annahme, ob die einzelne angetrocknete Membran selbst innere Abstandsschwankungen aufweist.

Liegen keine inneren parakristallinen Abstandsschwankungen vor, so folgt aus der Analyse ein Wert für die einfache Membranschichtperiode von $d_{M,I} = 54 \text{ \AA}$.

Sind dagegen innerhalb der Membran nach Antrocknung Abstandsschwankungen möglich, so ist die Lösung $d_{M,II} = 108 \text{ \AA}$ für die Einzelmembranperiode nicht auszuschließen.

Die Diskussion der unterschiedlichen Konsequenzen dieser beiden Möglichkeiten ergab einen Hinweis darauf, daß innere parakristalline Abstandsschwankungen einer Membran in diesen Präparaten nach Antrocknung vorliegen.

VI. Anhang

1. Berechnung des Faltungsquadrats einer symmetrischen

Struktur im eindimensionalen Fall mittels Fourierreihen

Der symmetrische Baustein der Länge L sei transformiert in das Intervall $(-\pi, +\pi)$ und die Elektronendichte sei dargestellt durch

$$(A1) \quad \rho_0(x) = a_0 + \sum_{k=1}^N a_k \cos kx \quad -\pi \leq x \leq +\pi$$

Das Faltungsquadrat $Q_0(x) = \widehat{\rho_0(x)} \rho_0(-x)$ ist dann gegeben durch

$$(A2) \quad Q_0(x) = \int_{-\pi+x}^{+\pi} (a_0 + \sum a_k \cos kx) (a_0 + \sum a_l \cos l(y-x)) dy$$

$0 \leq x \leq 2\pi$

wobei gilt $Q_0(x) = Q_0(-x)$

Wir betrachten im folgenden stets nur die Halbseite der Q_0 -Funktion für positive x , in der bereits alle Informationen über $\rho_0(x)$ enthalten sind.

Es wird das Faltungsquadrat $Q_0(x)$ eines einzelnen Bausteins erhalten, sofern nur die richtigen Integrationsgrenzen in (A2) gewählt werden. (vgl. Abb. 3). Ohne diese speziellen Integrationsgrenzen würde die Pattersonfunktion der unendlich ausgedehnten, periodisch sich wiederholenden Funktion $\rho_0(x)$ sich ergeben.

Die Integration von (A2) ist sehr einfach, wenn Gebrauch gemacht wird von

- (1) dem Satz, daß für stetige Funktionen Summation und Integration vertauschbar sind, und
- (2) den Additionstheoremem der trigonometrischen Funktionen

Es folgt im einzelnen

$$Q_0(x) = I_1 + I_2 + I_3 + I_4 + I_5$$

mit

$$I_1 = \int_{-\pi+x}^{+\pi} a_0^2 dy = (2\pi-x)a_0^2$$

$$I_2 = \sum_k \int_{-\pi+x}^{+\pi} a_0 a_k \cos ky dy = \sum_{k=1}^N (-1)^{k-1} \frac{\sin kx}{k}$$

$$I_3 = \sum_k \int_{-\pi+x}^{+\pi} a_0 a_k \cos k(y-x) dy = \sum_{k=1}^N (-1)^{k-1} \frac{\sin kx}{k}$$

Aus der Doppelsumme werden die Glieder mit $k=1$ vorgezogen:

$$\begin{aligned} I_4 &= \sum_k \int a_k^2 \cos ky \cos k(y-x) dy = \frac{1}{2} \sum_k \int a_k^2 (\cos(2ky-kx) + \cos kx) dy = \\ &= \frac{1}{2} \sum_{k=1}^N a_k^2 ((2\pi-x) \cos kx - \frac{\sin kx}{k}) \end{aligned}$$

Jetzt folgen die Glieder mit $k \neq 1$:

$$\begin{aligned} I_5 &= \sum a_k \sum a_l \int \cos ky \cos l(y-x) dy = \\ &= \frac{1}{2} \sum a_k \sum a_l \int (\cos((k+l)y-lx) + \cos((k-l)y+lx)) dy \\ &= \sum a_k \sum a_l (-1)^{k+l} \frac{(k \sin kx - l \sin lx)}{l^2 - k^2} \end{aligned}$$

Bei Vertauschung von k und l ändert dieser Ausdruck sein Vorzeichen nicht. Somit wird

$$I_5 = \sum_{k=1}^N 2a_k \sin kx \sum_{\substack{l=1 \\ l \neq k}}^N \frac{(-1)^{k+l}}{l^2 - k^2} a_l$$

Es zeigt sich, daß I_2 und I_3 in die Summe I_5 eingeschlossen werden können.

Summiert ergibt sich schließlich

$$(A3) \quad Q_0(x) = a_0^2(2\pi - x) + \sum_{k=1}^N \frac{1}{2} a_k^2 \left[(2\pi - x) \cos kx - \frac{\sin kx}{k} \right] + \\ (0 \leq x \leq 2\pi) \quad + \sum_{k=1}^N 2k a_k \sin kx \sum_{\substack{\ell=0 \\ \ell \neq k}}^N \frac{(-1)^{k+\ell} a_\ell}{1^2 - k^2}$$

2. Berechnung der Faltungswurzel von $Q_0(x)$ mittels Fourierreihen im eindimensionalen Fall

Das Ziel dieser Rechnung ist die Auflösung von (A3) nach dem Satz der Koeffizienten (a_k).

Wir führen zunächst folgende Abkürzungen für die Fourierkoeffizienten der Funktion $Q_0(x)$, ($0 \leq x \leq 2\pi$) ein:

$$IC(k) = \int_0^{2\pi} Q_0(x) \cos kx \, dx \quad k=0,1,\dots,N$$

$$IS(k) = \int_0^{2\pi} Q_0(x) \sin kx \, dx \quad k=1,2,\dots,N$$

Aus den Fourier-Cos-Koeffizienten der Q_0 -Funktion erhalten wir direkt die Absolutbeträge der Koeffizienten a_k von $Q_0(x)$.

Die Integration ergibt

$$(A4) \quad IC(0) = 2\pi^2 a_0^2$$

$$(A5) \quad IC(k) = \frac{1}{2} \pi^2 a_k^2 \quad k = 1, 2, \dots, N$$

Die weiteren zur Verfügung stehenden N Integrale $IS(k)$ können nun zur Bestimmung der Vorzeichen der Koeffizienten a_k benutzt werden.

Ein Vorzeichen, das $(N+1)$ -te, kann stets frei gewählt werden, da eine Vertauschung sämtlicher Vorzeichen den Wert von $Q_0(x)$ nicht ändert. Dies folgt aus der Eigenschaft von $Q_0(x)$, sowohl Faltungsquadrat von $\varphi_0(x)$ als auch von $-\varphi_0(x)$ zu sein.

Hier ergibt die Integration

$$(A6) \quad \frac{IS(k)}{2\pi} = \frac{a_0^2}{k} - \frac{a_k^2}{8k} + \sum_{\substack{l=1 \\ l \neq k}}^N \frac{ka_l^2}{2(k^2-l^2)} + \sum_{\substack{l=0 \\ l \neq k}}^N \frac{ka_l a_l (-1)^{k-l-1}}{(k^2-l^2)}$$

Nach einfacher Umformung erhalten wir

$$(A7) \quad IS'(k)a_k = \sum_{\substack{l=0 \\ l \neq k}}^N \frac{(-1)^{l+1} a_l}{(k^2-l^2)} \quad k = 1, 2, \dots, N$$

mit

$$IS'(k) = \left[\frac{IS(k)}{2\pi k} - \frac{a_0^2}{k^2} + \frac{a_k^2}{8k^2} - \sum_{\substack{l=1 \\ l \neq k}}^N \frac{a_l^2}{2(k^2-l^2)} \right] \frac{(-1)^k}{a_k^2}$$

Wir setzen nun $a_l = x_l / |a_l|$ und können (A7) damit in ein Gleichungssystem zur Bestimmung der Vorzeichen x_l umformen. Bringen wir jeweils a_0 auf die linke Seite, so verbleibt das übersichtliche und leicht programmierbare System

$$(A8) \quad \frac{a_0}{k^2} = \sum_{\substack{l=1 \\ l \neq k}}^N \frac{(-1)^{l+1} |a_l| x_l}{(k^2-l^2)} - IS'(k) x_k / |a_k|$$

$k = 1, 2, \dots, N$

Die Summationsgrenze N und damit der Rang des Gleichungssystems kann aus der Beziehung für $Q_0(0)$ oder aus der Parseval'schen Gleichung ermittelt werden.

VII. Literaturverzeichnis

- 1 Menke, W.
Brookhaven Symposia in Biology 19, 328 (1966)
- 2 Kreutz, W.
Advances in Botanical Research III (1970)
- 3 Hosemann, R. and Bagchi, S.N.
"Direct Analysis of Diffraction by Matter"
North Holland Publ. Co., Amsterdam (1962)
- 4 Hosemann, R. und Wilke, W.
Makromol. Chemie 118, 230 (1968)
- 5 Hosemann, R., Lemm, K. und Wilke, W.
Molecular Crystals 1, 333 (1967)
- 6 Schmitz, R.
Z.f. Naturforschung 22 b, 645 (1967)
- 7 Wiessner, W.
Flora (Jena) 149, 1 (1960)
- 8 Menke, W. und Weichan, U.
Archiv f. Mikrobiol. 60, 1 (1968)
- 9 Giesbrecht, P. und Drews, G.
Archiv f. Mikrobiol. 54, 297 (1966)
- 10 Kratky, O.
in Brumberger, H.
"Small-Angle X-Ray Scattering" S. 243 (1967)
(Proceedings of the Syracuse Conf. 1965)
Gordon and Breach, Sci. Publ.
- 11 Schnabel, E., Röde, H. und Hosemann, R.
J. Appl. Phys. in Druck
- 12 Hess, K. und Kiessig, H.
Z. Phys. Chem. 193, 196 (1944)

- 13 Lake, J.A.
Acta Cryst. 23, 191 (1967)
- 14 Menke, W. und Menke, G.
Protoplasma 46, 535 (1956)
- 15 Fleischer, S., Fleischer, B. and Stoeckenius, W.
J. Cell Biol. 32, 193 (1967)
- 16 Langridge, R., Barron, P.D., Siström, W.R.
Nature 204, 97 (1964)
- 17 Anderegg, J.W.
in Brumberger, H.
"Small-Angle X-Ray Scattering" S. 243 (1967)
(Proceedings of the Syracuse Conf. 1965)
Gordon and Breach, Sci. Publ.
- 18 Anderegg, J.W., Geil, P.H., Beeman, W.W., Kaesberg, P.
Biophys. J. 1, 657 (1961)
- 19 Anderegg, J.W., Wright, M., Kaesberg, P.
Biophys. J. 3, 175 (1963)
- 20 Drews, G. und Giesbrecht, P.
Archiv f. Mikrobiol. 52, 242 (1965)
- 21 Vainshtein, B.R.
"Diffraction of X-Rays by Chain molecules"
Elsevier Publ. Co. (1966)
- 22 Ji, Tae H., Benson, A.A.
Biochem. Biophys. Acta 150, 686 (1968)
- 23 Thompson, J.E., Coleman, R., Finean, J.B.
Biochem. Biophys. Acta 150, 405 (1968)
- 24 Vanderkooi, G., Green, D.E.
Proc. Nat. Acad. of Sci. 66, 615 (1970)
- 25 Vanderkooi, G., Sundaralingam, M.
Proc. Nat. Acad. of Sci. 67, 233 (1970)
- 26 Kreutz, W. Persönliche Mitteilung

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Anleitung von Professor Hosemann am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft sowie unter der Aufsicht von Professor Menke, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln-Vogelsang, angefertigt.

Für anregende Diskussionen und hilfreiche Kritik bin ich vor allem den Herren Professor Hosemann, Professor Menke, Professor Kreutz und Dr. Weick dankbar.

Herrn Professor Bradaczek danke ich für das Interesse, das er der Arbeit entgegenbrachte.

Der experimentelle Teil dieser Arbeit entstand am botanischen Institut der Universität Köln und am Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln-Vogelsang.

Herrn Professor Menke danke ich besonders für sehr wertvolle Ratschläge in der Präpariertechnik.

Für die Anzucht der Bakterien und die Isolierung der Thylakoide bin ich Fr. E. Schölzel und Herrn cand. rer. nat. W. Reuss zu Dank verpflichtet.

Lebenslauf

Am 14.1.1939 wurde ich als Sohn des Pfarrers W.H.Pape und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Hermann, in Pombsen/Schles. geboren.

Meine Schulzeit begann in Thumsenreuth (Oberpfalz) und wurde fortgesetzt in Burg bei Magdeburg, wo ich 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Das Physikstudium begann ich 1958 in Göttingen. 1959 wechselte ich an die Freie Universität Berlin, wo ich 1967 nach Anfertigung einer Diplomarbeit mit dem Titel "Eine Kleinwinkelstreuammer mit hohem Auflösungsvermögen" die Diplomprüfung ablegte. Die Diplomarbeit wurde in der Abteilung von Professor Hosemann am Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft in Berlin-Dahlem angefertigt.

Seit 1967 bin ich - in engem Kontakt mit Professor Hosemann - mit Röntgenkleinwinkeluntersuchungen biologischer Membranen in Köln beschäftigt gewesen, die zum Gegenstand dieser Dissertation wurden.

